



TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI  
Fakulta mechatroniky, informatiky  
a mezioborových studií



# METODY HODNOCENÍ INTERAKCE NANOČÁSTIC

**Bakalářská práce**

*Studijní program:* B3942 – Nanotechnologie  
*Studijní obor:* 3942R002 – Nanomateriály

*Autor práce:* **Kateřina Prouzová**  
*Vedoucí práce:* RNDr. Michal Řezanka, Ph.D.





TECHNICAL UNIVERSITY OF LIBEREC  
Faculty of Mechatronics, Informatics  
and Interdisciplinary Studies ■

# THE EVALUATION OF NANOPARTICLES INTERACTION

**Bachelor thesis**

*Study programme:* B3942 – Nanotechnology  
*Study branch:* 3942R002 – Nanomaterials

*Author:* **Kateřina Prouzová**  
*Supervisor:* RNDr. Michal Řezanka, Ph.D.



## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Kateřina Prouzová**  
Osobní číslo: **M11000055**  
Studijní program: **B3942 Nanotechnologie**  
Studijní obor: **Nanomateriály**  
Název tématu: **Metody hodnocení interakce nanočástic**  
Zadávací katedra: **Katedra chemie**

### Z á s a d y   p r o   v y p r a c o v á n í :

1. Vypracovat literární rešerši o možnostech hodnocení interakcí mezi nanočásticemi.
2. Zvládnout metodiku měření těchto interakcí.
3. Připravit a proměřit alespoň jeden typ nanočástic.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. **K. Bouchemal : Drug Discovery Today, 2008, 13, 960-72**
2. **C.C. You, S.S. Agasti, V.M. Rotello: Chemistry 2008, 14, 143-50**

Vedoucí bakalářské práce:

**RNDr. Michal Řezanka, Ph.D.**

Katedra chemie

Konzultant bakalářské práce:

**Mgr. Jana Karpíšková**

Ústav nových technologií a aplikované informatiky

Datum zadání bakalářské práce: **14. října 2013**

Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2014**



prof. Ing. Václav Kopecký, CSc.  
děkan



prof. Ing. Josef Šedlbauer, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Liberci dne 14. října 2013

## Prohlášení

Byla jsem seznámena s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum:

Podpis:

## Poděkování

Ráda bych na tomto místě poděkovala všem, kteří se mnou sdíleli své cenné zkušenosti a neváhali mi poradit při vypracování mé bakalářské práce. Panu prof. Ing. Ivanu Stiborovi, CSc. za jeho odborný nadhled, RNDr. Michalovi Řezankovi, Ph.D. za věcné připomínky a Mgr. Janě Karpíškové za trpělivost a vstřícnost při konzultacích.

## Abstrakt

Popis interakcí mezi nanočásticemi navzájem a také prostředím, ve kterém se nacházejí, je základním krokem pro jejich úspěšnou aplikaci, ať se jedná o jakoukoli oblast využití. Součástí této bakalářské práce je rešerše analytických metod, které jsou v současnosti využívány pro hodnocení interakcí nanočástic, včetně popisu jejich základního principu. Praktická aplikace analytických metod byla zaměřena na oblast aniontových receptorů, neboť tato oblast je v současnosti podrobena intenzivnímu výzkumu s úmyslem připravit selektivní aniontový receptor pro aplikaci v medicíně či k čištění odpadních vod. V rámci práce bylo připraveno a prozkoumáno několik typů aniontových receptorů, jejichž základní složkou byly amidové skupiny a močovina modifikované elektronakceptorními substituenty. Jako nosná matrice byl zvolen organicko-anorganický mesoporézní křemičitý materiál, který sám o sobě vykazuje dobré sorpční vlastnosti. Schopnost připravených receptorů vázat aniont z vodného roztoku byla testována na roztoku bromidu draselného. Pomocí iontové chromatografie byla změřena koncentrace aniontu v roztoku před a po přidání testovaného křemičitého materiálu a úbytkem této koncentrace byla prokázána schopnost receptoru zachytit daný aniont. Výsledky měření přinesly dva zásadní poznatky: zaprvé, že připravené receptory mají schopnost vázat bromidový aniont, a zadruhé, že samotné křemičité materiály jsou schopny vázat a opět uvolnit chlorid, neboť se po kontaktu roztoku s testovaným materiálem zvýšila koncentrace chloridů, která původně byla pod hranici detekce, až na téměř 2 mM.

### Klíčová slova:

Nanočástice, interakce, analytické metody, mesoporézní silikáty, aniontový receptor

## Abstract

Describing nanoparticles interactions among them or with the environment, where the particles are placed to, is the basic step for their successful application whatever the application field is. This bachelor's thesis contains a review of analytical methods which are currently used for evaluation of nanoparticles interactions including description of their basic principles. The practical application of the analytical methods was targeted to anion receptors, because this field is under intensive research due to the possibility of preparing selective anion receptor for medical application or for wastewater treatment. As a part of this work, several types of anion receptors based on modified amide and urea groups were synthesized using organic-inorganic mesoporous silica as a solid carrier because of its good sorption properties. The ability to bind anions in aqueous solution was tested on a potassium bromide solution. Using ion chromatography the anion concentration was measured before and after the addition of the tested silica and decrease of this concentration proved the ability to bind the anion. The results of measurement revealed two essential facts. First, the anion receptors prepared are able to bind bromide anions from aqueous solution. Second, the mesoporous silica themselves are able to bind and release again the chloride anion, because after the solution exposition to silica, the concentration of chlorides in the solution increased from an amount under the detection limit up to almost 2 mM.

### Key words:

Nanoparticles, interactions, analytical methods, mesoporous silica, anion receptor



## Obsah

1. Úvod .....	11
2. Teoretická část .....	12
2.1. V současnosti používané metody pro hodnocení interakce .....	12
2.1.1. Isothermální titrační kalorimetrie ITC .....	12
2.1.2. Spektroskopie .....	15
2.1.3. Fluorescence rezonančního přenosu energie - FRET .....	18
2.2. Hodnocení interakce nanočástic s anionty.....	19
2.2.1. Aniontový receptor - základní princip .....	19
2.2.2. Křemičité mesoporézní materiály .....	21
2.2.2.1. Syntéza organicko-anorganických mesoporézních materiálů .....	23
2.2.2.2. Modifikace funkčních skupin pro vznik aniontového receptoru .....	25
2.2.3. Analýzy interakce s anionty .....	26
3. Experimentální část .....	27
3.1. Použité chemikálie a instrumentace .....	27
3.2. Syntéza SBA-15 .....	27
3.3. Funcionalizace APTES .....	28
3.4. Modifikace SBA-15 a MCM-41 elektronakceptorními substituenty .....	28
3.4.1. Dichloracetylchlorid.....	28
3.4.2. 1-naftylisokyanát .....	29
3.4.3. 3,5-dinitrobenzoylchlorid .....	30
3.5. Testování záchytu aniontů ve vodném roztoku .....	31
3.6. Měření interakcí modelové sloučeniny pomocí ITC .....	31
4. Výsledky a diskuse .....	33
4.1. Analýza připravených nanočástic .....	33
4.2. Záchyt aniontů ve vodném roztoku.....	34
4.3. Měření interakce modelové sloučeniny pomocí ITC .....	37
5. Závěr .....	39

Seznam literatury .....	40
Seznam obrázků .....	42
Seznam tabulek .....	42

## Seznam použitých zkratk

APTES - 3-(aminopropyl)triethoxysilan

BET – označení metody měření měrného povrchu a velikosti pórů materiálů pomocí dusíkové sorpce

DMF - N,N-dimethylformamid

DNA – deoxyribonukleová kyselina

FRET – fluorescence resonančního přenosu energie

ITC – isothermální titrační kalorimetrie

MCM-41 – DCA - Mobil Crystalline Materials modifikovaný za použití dichloracetylchloridu

MCM-41 – DNB - Mobil Crystalline Materials modifikovaný za použití 3,5-dinitrobenzoylchloridu

MCM-41 – Mobil Crystalline Materials

MCM-41 – NAF - Mobil Crystalline Materials modifikovaný za použití 1-naftylisokyanátu

P123 - poly(ethylen glykol)-blok-poly(propylen glykol)-blok-poly(ethylen glykol)

SBA-15 – DCA - Santa Barbara Amorphous type materiál modifikovaný dichloracetylchloridem

SBA-15 – Santa Barbara Amorphous type materiál

TEOS - tetraethylorthosilikát

## 1. Úvod

Rozvoj moderní zobrazovací techniky, která umožňuje nahlédnout do světa atomů, molekul a částic o velikosti milionkrát menší než špendlíková hlavička, otevřel cestu výzkumu v oblasti nanomateriálů. Nanomateriál je takový materiál, jehož strukturní částice, z nichž je tvořen, mají alespoň jeden rozměr v řádech nanometrů – tedy  $10^{-9}$  m. Dle počtu rozměrů, které má daná struktura v nanometrech, rozlišujeme tzv. 0D, 1D a 2D objekty.

- 0D objekt má všechny rozměry v řádech nanometrů a nazývá se nanočástice
- 1D objekt má dva rozměry v řádech nanometrů, třetí rozměr je libovolný a tento objekt nese označení nanovláknko nebo nanotrubička
- 2D objekt má v řádech nanometrů pouze jeden rozměr; jedná se především o různé speciální povrchové vrstvy, jejichž tloušťka je v řádech nanometrů

Nanostruktury se vyznačují obrovským měrným povrchem, což je předurčuje k použití jako katalyzátory (Habibi and Faraji, 2013; Safaei-Ghomi et al., 2013), sorpční media (Bhatnagar et al., 2010; Bui et al., 2011), či jako nosiče pro přepravu léčiv v organismu (Mamaeva et al., 2013; Moghassemi and Hadjizadeh, 2014; Shpigelman et al., 2014; Szegedi et al., 2011). Ve své práci se budu zabývat nyní velmi intenzivně zkoumanou oblastí výzkumu: tvorbou aniontových receptorů.

Struktury schopné rozpoznat a zachytit konkrétní aniont jsou v přírodě nesmírně důležité a podílí se na základním fungování všech organismů. Aniontové receptory jsou například součástí buněčných transportních systémů, které zajišťují přísun konkrétních živin skrz buněčnou membránu. Současný stupeň poznání umožňuje tyto struktury mapovat a na základě získaných informací se vědci snaží syntetizovat umělé receptory. (Amendola et al., 2010; Bondy and Loeb, 2003) Benefity, které by přineslo vytvoření aniontového receptoru, který by byl schopný selektivně navázat konkrétní aniont, jsou značné. Kromě medicínských aplikací, kdy by se aniontový receptor mohl stát součástí transportních systémů pro cílený přenos léčiv, se nabízí aplikace v ochraně životního prostředí, kde by bylo možné odstranit z odpadních vod přebytek fosforečnanů a nitrátů, které se do přírody dostávají z průmyslových hnojiv a pracích prášků.

Pro jakékoliv aplikace nanomateriálů je důležité znát jejich chování v prostředí, v němž se budou vyskytovat. Je nutné prozkoumat interakce částic navzájem i interakce, které mohou nastat působením vnějších vlivů. Cílem mojí práce je podat stručný přehled metod, které mohou napomoci hodnocení interakcí nanočástic, jak vzájemných, tak interakcí s okolím, a teoretické poznatky aplikovat na hodnocení interakcí nanočástic s anionty. Součástí práce je příprava vlastních aniontových receptorů, na jejichž syntézu využiji organicko-anorganické křemičité mesoporézní materiály, a následné měření míry zachytu aniontů pomocí změny koncentrací testovaných roztoků před a po přidání připravených sloučenin.

## 2. Teoretická část

### 2. 1. V současnosti používané metody pro hodnocení interakce

#### 2. 1. 1. Isothermální titrační kalorimetrie ITC

Kalorimetrická měření jsou prováděna již dlouhou dobu. Na počátku vývoje této metody se jednalo o měření především fyzikálních jevů, např. při určování měrného skupenského tepla tání dané látky, později se přidaly i chemické aplikace pro měření změn teploty při probíhající reakci. Kalorimetry byly nevelké izolované nádoby s otvory pro míchátko a teploměr. Od této chvíle se použitá instrumentace podstatně změnila a s rozvojem moderní techniky a zdokonalováním měřících senzorů se kalorimetry staly vysoce přesným měřícím zařízením. Isothermální titrační kalorimetrie je v dnešní době nedocenitelným pomocníkem pro studium mezimolekulárních interakcí. (Amendola et al., 2006; Doyle, 1997; Velázquez Campoy and Freire, 2005)

Základním principem měření je fakt, že při každé změně molekulového uspořádání dojde k energetické změně celého systému. Současné titrační kalorimetry jsou schopné zaznamenat a kvantifikovat i velmi malé energetické změny v řádech setin  $\mu\text{J}$ , které odpovídají nevazebným interakcím mezi molekulami a konformačním změnám. Isothermální kalorimetr měří teplo, které vzniká při interakci, a toto teplo při konstantním tlaku a teplotě odpovídá přímo změně entalpie  $\Delta H$  daného systému. S použitím základních termodynamických vztahů je možné dopočítat také změnu entropie  $\Delta S$  a Gibbsovy volné energie  $\Delta G$  systému, ke kterým došlo během procesu, stejně jako určit asociační konstantu  $K_a$ .

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

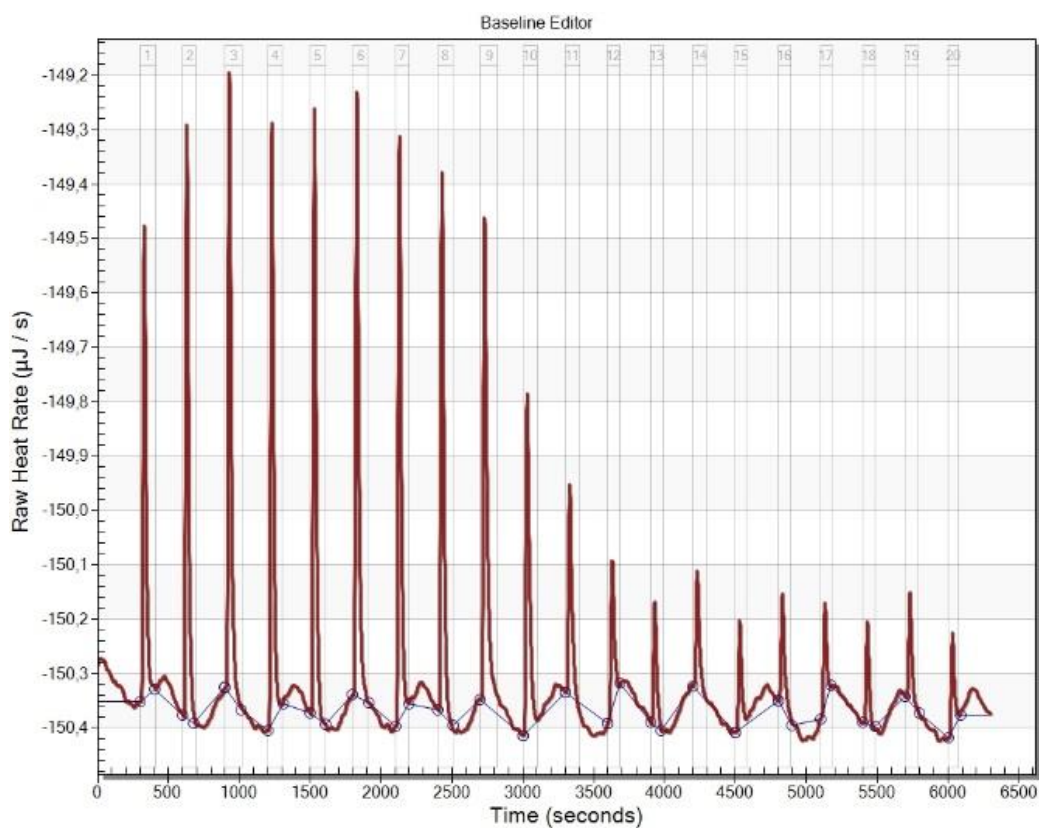
**Rovnice 1: Vztah pro výpočet Gibbsovy volné energie systému**

$$\Delta G = -RT \ln K_a$$

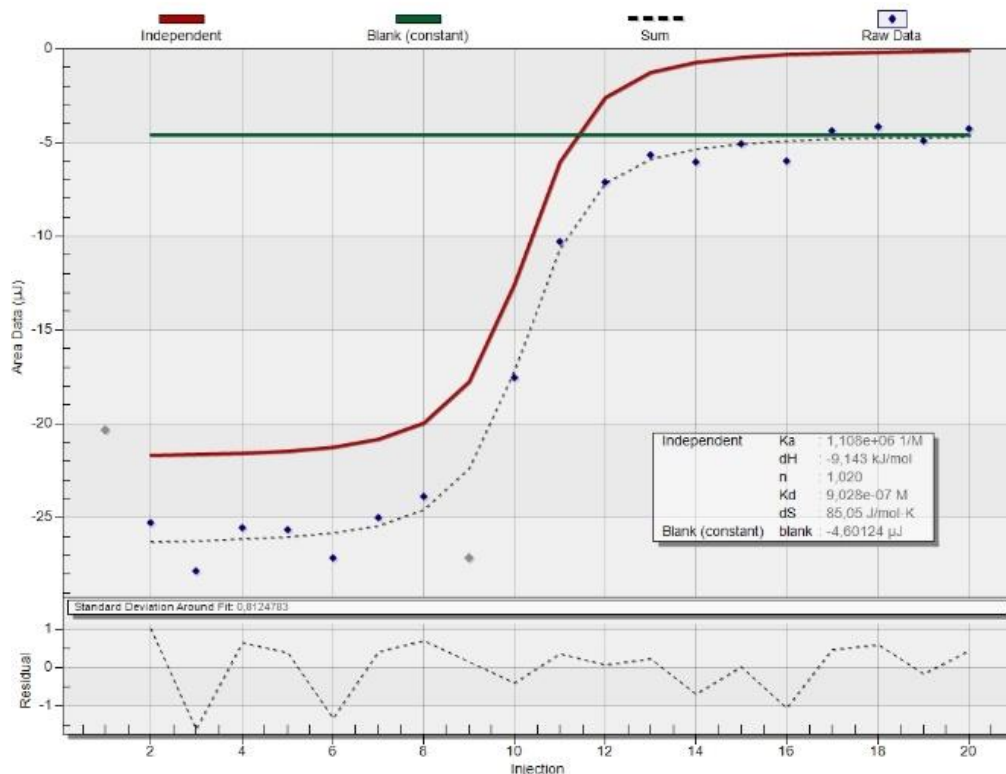
**Rovnice 2: Vztah pro výpočet asociační konstanty**

Základními prvky isothermálního titračního kalorimetru jsou tepelně izolované měřící cely, do kterých je umístěn první reaktant a referenční kapalina, s elektrodami pro přenos elektrického signálu a titrační nástavec s motorkem, kde je umístěna speciální titrační byreta s druhým reaktantem. V případě přístroje NanoITC Low Volume, který máme k dispozici v naší laboratoři, jsou měřící i referenční cely vyrobeny z 24 karátového zlata o reakčním objemu 300  $\mu\text{l}$ . Do měřící cely se umísťuje vzorek, jehož vlastnosti chceme zkoumat, referenční celu plníme čistým rozpouštědlem. Titrační nástavec obsahuje motorek pro přesnou titraci zvoleným množstvím a také rotor, který zajišťuje otáčení speciální titrační jehly a tím míchání reakční směsi. V průběhu experimentu přístroj vyhodnocuje energetické změny a měří příkon potřebný pro udržení referenční a měřící cely

na stejné teplotě. Následně dojde k vyhodnocení signálu pomocí speciálního softwaru a integrací získáme hodnoty energie pro každou jednotlivou injektáž. Následuje zpracování naměřených údajů s použitím nelineární regrese a určení vazebné afinity, entalpie a stechiometrie daného děje. Ukázky výstupu z měřicího přístroje NanoITC jsou na následujících obrázcích. Obrázek 1 zachycuje průběh signálu při jednotlivých injektážích a Obrázek 2 zobrazuje statistické vyhodnocení titrace HCl do  $\text{KHCO}_3$ , kterou jsem provedla v rámci proškolení.



Obrázek 1: Tepelné změny při titraci HCl do  $\text{KHCO}_3$



Obrázek 2: Průběh signálu a statistické vyhodnocení při titraci HCl do  $\text{KHCO}_3$

Ačkoliv isothermální titrační kalorimetrie umožňuje měřit tepelné změny s velkou přesností, je třeba mít na paměti, že dané energetické změny nic neříkají o mechanismu interakcí, které v daném systému proběhly. Při vyhodnocení získaných dat je potřeba uvažovat i možné vedlejší procesy, které v reakční směsi nastaly a mohou mít vliv na konečnou hodnotu naměřené energie.

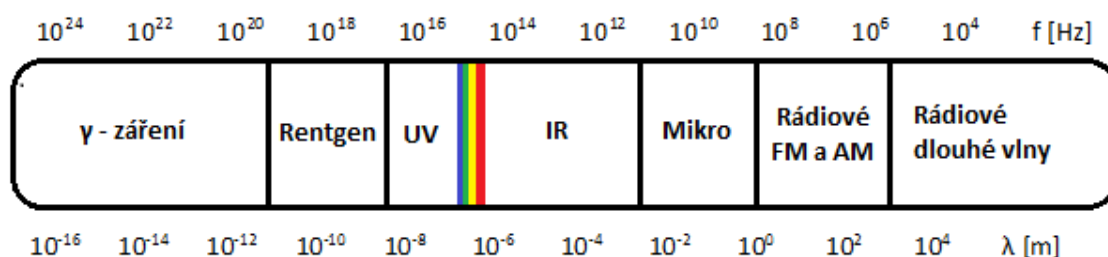
Isothermální titrační kalorimetrie má univerzální možnost užití. Největší uplatnění nyní nachází v biologickém a farmaceutickém výzkumu. Díky svému uspořádání umožňuje měřit vazebné interakce mezi základními stavebními složkami organismů, jako jsou proteiny, lipidy či molekuly DNA v jejich přirozeném stavu. Není potřeba žádných dodatečných úprav, jako je barvení fluorescenčními sondami, nebo uchycení a fixování molekul k podkladu. Poznatky o chování těchto základních složek ve stejných podmínkách, jaké mají v organismu, napomáhají při výzkumu farmak pro léčbu rakoviny, cukrovky, nebo při vývoji antibiotik proti rezistentním typům bakterií či kvasinek.

Další oblastí, kde je přínosné použít titrační kalorimetrii, je polymerní chemie. S použitím této metody je možné zkoumat interakce polymeru s rozpouštědly, vyhodnotit chování polymerních řetězců nesoucích opačný náboj než rozpouštědlo, či chování polymerů neutrálních. Z výsledků experimentů lze určit základní parametry daného polymeru, jakými jsou kritická koncentrace, tedy koncentrace polymeru, při jejímž překročení se polymerní řetězce vzájemně propletou, a entalpie agregace.

Své uplatnění nalézá titrační kalorimetrie i při výzkumu nanočástic, především těch určených pro medicínské aplikace. Je možné zhodnotit vliv přítomnosti různých ligandů, interakci nanočástic s proteiny či molekulami nukleových kyselin. Stejně tak je možné zhodnotit schopnost navázat na sebe aktivní látky, jako jsou léčiva nebo receptory umožňující rozpoznat správně místo určení. (Bouchemal, 2008)

### 2. 1. 2. Spektroskopie

Spektroskopie je věda, která se zabývá interakcí hmoty s elektromagnetickým zářením (Obrázek 3). V současné době je známo mnoho různých spektroskopických metod pro studium materiálů, které se od sebe liší především vlnovou délkou použitého záření. S použitím spektroskopie je možné určit molekulovou strukturu a konformaci i velmi složitých molekul. Spektroskopické metody by měly být použity ruku v ruce s dříve zmíněnou titrační kalorimetrií pro správnou interpretaci energetických změn v systému. Za pomoci spektroskopických metod je možné zjistit vznik či zánik vazeb před a po interakci výchozí látky s dalším reaktantem a následně interpretovat energetické změny kvantifikované pomocí titrační kalorimetrie. Mezi základní spektroskopické techniky používané pro určení struktury organických sloučenin patří infračervená (IR) spektroskopie, ultrafialová (UV) spektroskopie, a nukleární magnetická resonance (NMR). Své uplatnění pro hodnocení interakcí nanočástic především v živých buňkách nachází také Ramanova spektroskopie. (Lin et al., 2013)



Obrázek 3: Elektromagnetické spektrum

Pro **infračervenou spektroskopii** je charakteristická absorpce záření z infračervené oblasti, tedy záření o vlnové délce 2500 – 16 000 nm. Fotony tohoto záření nemají dostatečnou energii na to, aby excitovaly elektrony na vyšší energetickou hladinu, ale mohou způsobit vibrace vazeb mezi molekulami. Kovalentní vazby mezi atomy nemají pevnou délku, ale neustále se zkracují a prodlužují, podobně jako kdyby atomy, které spojují, byla závaží zavěšená na pružině. Dle druhu atomů, které



jsou na „pružinu“ napojeny, kmitá tato vazba s určitou frekvencí, má tedy schopnost absorbovat právě jednu vlnovou délku dle vztahu:

$$E = h \cdot f = h \cdot \frac{c}{\lambda}$$

#### Rovnice 3: Vztah pro výpočet energie záření

kde  $h$  je Planckova konstanta,  $f$  je frekvence záření,  $\lambda$  vlnová délka a  $c$  rychlost světla. Tato vlastnost umožňuje identifikaci charakteristických funkčních skupin podle toho, jaká je vlnová délka záření, které daná sloučenina absorbuje. V praxi se měří transmitance, tedy intenzita záření, které látkou projde, v závislosti na vlnové délce záření. V oblastech absorpce se ve výsledném spektru objeví píky směrem dolů.

**Ultrafialová spektroskopie** již používá záření s kratší vlnovou délkou (obvykle 200 – 400 nm), jehož energie už postačuje na excitaci elektronu do vyššího orbitalu. Obvykle dochází k přesunu elektronu z nejvyššího zaplněného vazebného orbitalu (HOMO – the highest occupied molecular orbital) do nejnižšího volného antivazebného orbitalu (LUMO – the lowest unoccupied molecular orbital). Ultrafialová spektroskopie je metoda vhodná pro určování struktury sloučenin s násobnými vazbami, zvláště pokud jsou tyto vazby konjugované, tj. dochází ke střídání násobné a jednoduché vazby. V praxi probíhá měření absorbance, což je veličina, která udává, jak mnoho záření bylo pohlceno měřeným vzorkem, v závislosti na vlnové délce záření. Absorbance je definována vztahem:

$$A = \log \frac{\phi_0}{\phi}$$

#### Rovnice 4: Definice absorbance

kde  $\phi_0$  je dopadající zářivý tok a  $\phi$  je prošlý zářivý tok. Většina přístrojů však zaznamenává pouze prošlý zářivý tok, proto se při měření určuje poměr prošlého zářivého toku  $\phi$  u roztoku, který obsahuje zkoumanou sloučeninu, a prošlý zářivý tok  $\phi_0$  u roztoku, který danou sloučeninu neobsahuje. Pro určení struktury je důležitá vlnová délka příslušná maximu absorbance. Tato vlnová délka totiž odpovídá rozdílu energií vazebného a antivazebného orbitalu, mezi kterými došlo k přesunu elektronu. Pokud v molekule existují konjugované násobné vazby, dochází ke snižování energetického rozdílu mezi těmito orbitály a maximum absorbance se posouvá k vyšším vlnovým délkám. U některých sloučenin dochází k absorpci světla již ve viditelné oblasti a tyto sloučeniny se poté našemu oku jeví jako barevné.

Vzhledem k tomu, že absolutní množství pohlceného záření závisí na počtu molekul, které se vyskytují v dráze prošlého paprsku, je vhodné přepočítat absorbanci na relativní jednotku, která by

byla charakteristická pro danou sloučeninu nezávisle na její aktuální koncentraci. Tato jednotka se nazývá molární absorpční koeficient  $\varepsilon$  a její definice vychází z Lambertova-Beerova zákona:

$$\varepsilon = \frac{A}{c \cdot l}$$

**Rovnice 5: Vztah pro výpočet molárního absorpčního koeficientu**

kde  $A$  je absorbance,  $c$  koncentrace měřeného roztoku a  $l$  rozměr měřicí kyvety rovnoběžný se směrem procházejícího paprsku.

**Nukleární magnetická rezonance** používá záření s vlnovou délkou z oblasti radiových vln, tedy záření s nejnižší energií. Na rozdíl od dříve zmíněných metod nedochází však při měření k interakci záření s elektronovým obalem, ale se samotnými jádry. Jádra prvků rotují, a protože jsou kladně nabitá, vytváří kolem sebe při svém pohybu magnetické pole. Toto pole je schopné interagovat s vnějším magnetickým polem, které vytvoříme kolem zkoumaného vzorku. V praxi se používá vnější magnetické pole o síle nejméně 7 T. Přiložením vnějšího magnetického pole se původně nahodile rotující jádra srovnají tak, aby osa jejich rotace byla rovnoběžná se směrem magnetické indukce vnějšího magnetického pole. Následkem toho je směr jejich vlastní magnetické indukce buď paralelní s vnějším polem nebo antiparalelní podle toho, na jakou stranu se jádra otáčí kolem osy. Energie paralelního stavu a antiparalelního stavu nejsou stejné, je tedy možné dodáním energie ve formě elektromagnetického záření překlopit rotaci jader z nižšího energetického stavu do stavu s vyšší energií. Hodnota energie je pro každý prvek charakteristická, tudíž po ozáření správnou vlnovou délkou dojde k nárůstu vnitřního magnetického pole, který je možné změřit. Rozdíl energií mezi nižší hladinou a vyšší hladinou závisí na síle vnějšího magnetického pole, je proto výhodné používat pole s co nejvyšší hodnotou magnetické indukce, protože je pak možné rozlišit různá jádra s nízkým rozdílem energie. Velikost vnitřního magnetického pole jednotlivých jader ve vzorku závisí ještě na jejich poloze v molekule. Vlivem elektronových obalů sousedících atomů dochází ke stínění jádra proti vnějšímu magnetickému poli a rezonanční vlnová délka tohoto jádra se mírně liší od rezonanční vlnové délky jádra nestíněného. Z rozdílů vlnových délek je pak možno usoudit, s jakými funkčními skupinami sousedí daný atom v molekule, a určit tak celou strukturu molekuly. Jedinou podstatnou nevýhodou této metody je, že s vnějším magnetickým polem měřitelně interagují pouze jádra s nenulovým spinem, tj. jádra, která obsahují lichý počet protonů nebo neutronů. Není proto možné změřit např.  $^{16}\text{O}$  nebo  $^{12}\text{C}$ . Nicméně atomy  $^1\text{H}$  nebo  $^{13}\text{C}$  jsou měřitelné dobře. V praxi se dnes při zpracování měření používá Fourierova transformace, která umožnila zkrácení doby měření, protože není nutné ozařovat vzorek každou vlnovou délkou zvlášť, ale je možné použít krátký impuls složený z mnoha vlnových délek současně, a akumulace naměřených spekter, která při zprůměrování několika tisíc naměřených spekter minimalizuje šum a zvýrazní naměřené hodnoty.

### 2. 1. 3. Fluorescence rezonančního přenosu energie - FRET

Fluorescence je schopnost látky pohltit fotony elektromagnetického záření s určitou energií a následně vyžářit fotony s energií nižší. Tento děj je způsoben excitací elektronů v atomu, které absorpcí fotonu zvýší svoji energii a přeskóčí na vyšší energetickou hladinu. Postupně dochází ke ztrátám energie, které jsou spojeny s tzv. nezářivými přechody, kdy se jedná o přesun v rámci jedné rozštěpené hladiny. Při přesunu z první energeticky vyšší hladiny  $S_1$  do základního stavu  $S_0$  dojde k vyžáření fotonu, tzv. zářivý přechod. Tento foton již má menší energii, než foton absorbovaný, emitované záření bude mít tudíž větší vlnovou délku dle vztahu:

$$E = h \cdot \frac{c}{\lambda}$$

$$E_{emitovaná} < E_{absorbovaná} \rightarrow \lambda_{emitovaná} > \lambda_{absorbovaná}$$

Rovnice 6: Vyjádření posunu vlnové délky emitovaného záření

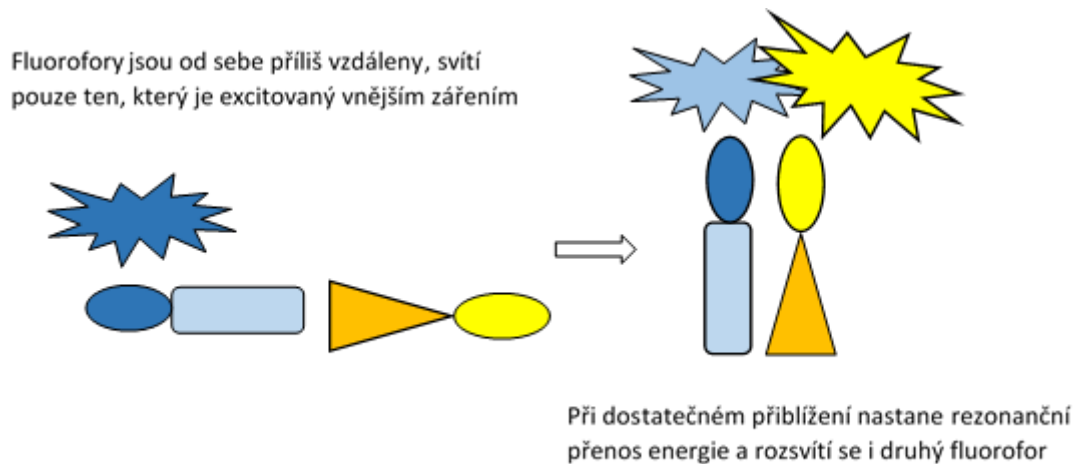
Fluorescence je děj velice rychlý, protože „životnost“ atomu v excitovaném stavu je krátká, řádově  $10^{-9} - 10^{-6}$  sekundy. Látky, ve kterých tento děj probíhá, se označují jako fluorofory a obvykle obsahují konjugovaný systém  $\pi$ -elektronů, tedy násobných vazeb. Každý druh fluoroforu je charakterizován dvěma typy spekter – excitačním a emisním.

- Excitační spektrum zachycuje závislost intenzity fluorescence v závislosti na vlnové délce excitačního záření, přičemž vlnová délka emitovaného záření je stejná
- Emisní spektrum zachycuje intenzitu fluorescence v závislosti na vlnové délce emitovaného záření při konstantní vlnové délce záření budícího

Maxima intenzit jsou od sebe vzdálena úměrně rozdílu energií mezi budícím a emitovaným zářením. Jedná se o tzv. Stokesův posuv. Při výběru fluorescenčního barviva je důležité brát v úvahu oba typy spekter, abychom měli dostupnou vlnovou délku pro excitaci a zároveň uměl přístroj zaznamenat i emitovanou vlnovou délku. Také musí být přístroj dostatečně citlivý, aby zaznamenal i malý rozdíl ve vlnové délce, případně se musíme spokojit s nižší intenzitou fluorescence, abychom dosáhli většího rozdílu vlnových délek.

Přenos energie z jednoho fluoroforu na druhý je jev, který byl objeven a popsán již v 50. letech minulého století vědcem T. Försterem. Odtud také pochází druhý používaný název pro tuto metodu: „Förster resonance energy transfer“. K praktickému využití se však dostává až od devadesátých let, kdy byl prozkoumán fluorescenční protein GFP, což umožnilo výrobu nepřeborného množství fluorescenčních barviv. Základním principem této metody je, že pokud se k sobě dostatečně přiblíží dva fluorofory, kde emisní spektrum jednoho překrývá část absorpčního spektra druhého, rozsvítí se i druhý fluorofor (Obrázek 4). Tento jev má však pouze velmi krátký dosah, přenos energie lze provést

na vzdálenost cca 1 – 10 nm. V praxi je tedy možné sledovat vzájemné interakce molekul v reálném čase, dokázat konformační změnu molekul při interakci s jinou molekulou nebo měřit molekulovou vzdálenost (Truong and Ikura, 2001). Obrovský význam má tato metoda především v biologii, kde je možné zkoumat vnitřní pochody buněk *in vivo*, tedy přímo v živých buňkách (Morton et al., 2014).



Obrázek 4: Schéma FRET

## 2. 2. Hodnocení interakce nanočástic s anionty

V následující kapitole se budu zabývat principem interakcí aniontů se zkoumaným materiálem. Popíši myšlenky, na kterých je založena tvorba záchytného systému pro anionty, a použitý typ nanočástic a jejich syntézu.

### 2. 2. 1. Aniontový receptor - základní princip

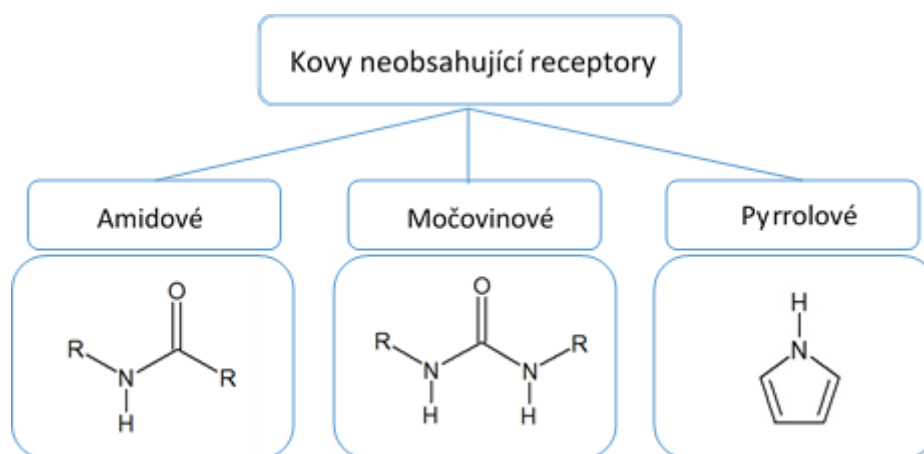
Schopnost rozpoznat a zachytit specifický anion je základním předpokladem pro fungování života na Zemi. Aniontové receptory jsou součástí transportních systémů buněčných membrán, které umožňují přenášet důležité živiny dovnitř do buňky, odpadní látky ven z buňky a také přenášet informace a signály, díky kterým buňka komunikuje se svým okolím (Roelfsema et al., 2012). S prohlubujícím se poznáním v oblasti molekulového designu a koordinační chemie se naskytá myšlenka připravit umělé receptory, které by byly schopny vázat anionty dle našich požadavků. Vzhledem k benefitům, které by tato možnost přinesla v případě úspěchu, je oblast tvorby aniontových receptorů již několik let podrobena intenzivnímu výzkumu.

První oblastí, kde by sloučeniny schopné vázat specifický anion našly svoje uplatnění, je medicína. (Burckhardt, 2012; Gale and Quesada, 2006) V současné době probíhá mnoho studií cíleného transportu léčiv přímo k nemocným buňkám za pomoci speciálních „nano-krabiček“, ať už se jedná o anorganické porézní nosiče, či liposomy organického původu. Bohužel mnoho slibně vypadajících pokusů provedených mimo živou tkáň v reálném prostředí organismu nepřineslo kýžené výsledky.

Obvyklým problémem je reakce imunitního systému, který cizorodé částice zlikviduje dříve, než se dostanou na místo určení. Tuto nežádoucí reakci se vědci snaží eliminovat maskováním použitých částic tak, aby je imunitní systém považoval za organismu vlastní objekty. V případě, že se nosiče dostanou až k buňkám, nastává další problém – je třeba buňku přesvědčit, aby nosič s léčivem pustila dovnitř skrz buněčnou membránu. A zde přichází uplatnění aniontových receptorů. Pokud by nosič léčiva měl na svém povrchu navázaný receptor se specifickým aniontem, který je buňka ochotná vpustit dovnitř, je naděje, že spolu s aniontem projde i nosič s léčivou látkou.

Další oblastí, ve které by „na míru vyrobené“ aniontové receptory byly velkým přínosem, je ochrana životního prostředí. Činnost člověka zanechává v přirozeném prostředí mnoho látek, které v nadbytku přírodu zatěžují, a zatím nejsme schopni tyto látky z životního prostředí efektivně odstranit. Mezi tyto polutanty patří například dusičnany a fosforečnany, které jsou součástí průmyslových hnojiv či pracích prostředků. Jen v České republice uniklo za rok 2012 do životního prostředí 278 490 kg fosforu a 5 764 949 kg dusíku ve formě sloučenin (Dědinová and Hlavatý, 2014). Přínos, kterým by byl receptor schopný zachytit specifický odpadní aniont i při jeho relativně nízkých koncentracích a poté jej uvolnit a recyklovat, je očividný.

Při navrhování umělých aniontových receptorů nachází vědci inspiraci u přírodních molekul, ale stejně tak vytváří receptory dle svých vlastních idejí. V zásadě lze uměle připravené receptory rozdělit na dvě skupiny: ty, které obsahují atom kovu, a receptory, které atom kovu neobsahují (Gale and Quesada, 2006). Součástí méj práce byla snaha o přípravu kovy neobsahujících zachytných systémů (Obrázek 5), dále se tedy budu zabývat již jen jimi.



Obrázek 5: Typy kovy neobsahujících receptorů

Společným rysem kovy neobsahujících receptorů je přítomnost funkční skupiny, která nese atom dusíku s vodíkovým atomem. Vlivem přítomnosti dalšího substituentu navázaného na dusíkový atom,

který je elektronakceptorní, tedy má schopnost k sobě přitahovat elektrony, vzniká na přítomném atomu vodíku nedostatek elektronů a parciální kladný náboj. S tímto „kladně nabitým místem“ pak interaguje aniont z roztoku a je nemalá šance, že s receptorem vytvoří stabilní komplex.

Amidové receptory (Bondy and Loeb, 2003) jsou stavebně nejjednodušší, ale zato velmi variabilní co se týče možnosti modifikovat je různými elektronakceptorními substituenty. Tato vlastnost vychází z ochoty aminové skupiny reagovat s deriváty organických kyselin za vzniku amidů. Kromě jednoduchých sloučenin lze připravit i prostorově složitější makromolekuly, kde se k efektu vodíkových vazeb a elektrostatických sil připojí i sterické efekty. Je možné vytvořit cyklické sloučeniny, které ve svých středech obsahují dutinu, do níž „trčí“ atomy vodíku. Tato dutina je pak předurčena stát se vazebným místem aniontu. Vzhledem k relativně pevnému uspořádání cyklu je však jasně definovaná velikost dutiny a tudíž je možné navázat pouze aniont, který se do dané dutiny vejde. Jiným přístupem molekulového designu je navázání alifatických sloučenin k nějakému nosnému substrátu, kde jsou jednotlivé řetězce vůči sobě relativně volně uspořádané a je umožněna změna jejich konformace. Takovéto systémy pak umožňují navázat širší spektrum aniontů, protože má vazebné místo možnost přizpůsobit se velikosti aniontu. Inspiraci pro vývoj těchto receptorů nacházíme v přírodě, kde jsou amidové skupiny např. součástí receptory-tvořících proteinů přítomných v buněčné membráně. Amidové funkční skupiny jsem se pokusila ve formě řetězců navázat na anorganický nosič tvořený křemičitým porézním materiálem (viz další kapitola) a proměřit ve své bakalářské práci.

Receptory, jejichž funkční skupinu tvoří močovina, jsou také velmi intenzivně zkoumány. Základním rozdílem oproti jednoduchým amidovým receptorům je fakt, že močovinová jednotka je schopná do tvorby komplexu s aniontem poskytnout dva vodíkové atomy, zatímco amidová skupina obsahuje atom vodíku jen jeden. Močovina tedy dokáže nabídnout více vazebných míst a vytvořit silnější interakci. Více močovinových jednotek je opět možné propojit do cyklů, v jejichž dutině dochází ke komplexaci aniontu.

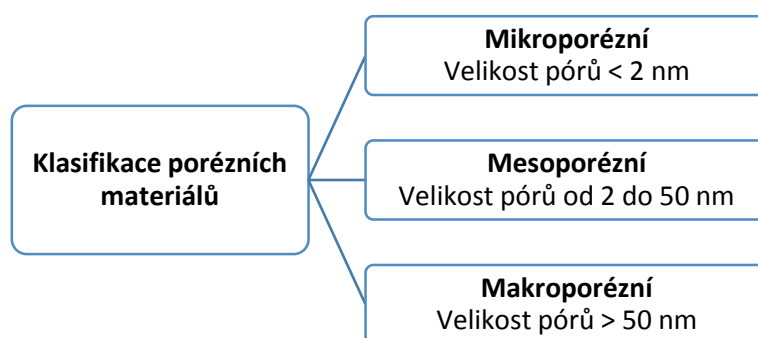
Relativně novým stavebním blokem, který se stává součástí výzkumu tvorby aniontových receptorů, je pyrolová skupina. Možnosti jeho použití vychází z teoretických modelů a simulací, podle kterých se následně vědci snaží syntetizovat reálné sloučeniny. (Gale, 2000, 2001; Gale and Quesada, 2006)

### 2. 2. 2. Křemičité mesoporézní materiály

V současnosti velmi intenzivně zkoumanou skupinou materiálů, které by mohly přinést velký rozvoj v mnoha vědeckých disciplínách, ať už v chemické syntéze jako katalyzátory nebo matrice pro přípravu jiných materiálů se specifickým tvarem, tak v medicíně jako transportéry léčivých či diagnostických látek, je skupina mesoporézních (viz Obrázek 6) křemičitých materiálů. Jejich hlavní

předností, kromě velkého měrného povrchu typického pro všechny nanočástice, je dobře definovaná poréznost. Vybráním vhodných reakčních podmínek je možné připravit křemičité nanočástice s porézní strukturou s velikostí pórů typicky od 2 do 15 nm (Hoffmann et al., 2006) dle typu připraveného materiálu. Póry u jednotlivých typů se vyznačují úzkou distribucí velikostí a pravidelným uspořádáním.

Křemičité mesoporézní materiály by mohly být nástupci zeolitů. Zeolity jsou krystalické látky vyskytující se volně v přírodě, jejichž základním chemickým složením je hliník a křemík, ale mohou obsahovat řadu příměsí. Je možné je nalézt především v sopečných horninách. Pro průmyslové aplikace se využívají zeolity připravené uměle, aby byla zajištěna jejich chemická čistota. Vyznačují se hustou porézní strukturou s velikostí pórů pod 2 nm, patří tedy již do mikroporézních materiálů. Takto malá velikost pórů je vhodná pro záchyt malých molekul, proto je možné použít zeolity jako tzv. molekulová síta pro záchyt jednotlivých iontů či molekul vody. Nicméně například pro medicínské aplikace jsou zeolity nevhodné, neboť léčivé látky mají často větší velikost a do takto malých pórů se nevejdou.



Obrázek 6: Klasifikace porézních materiálů dle velikosti pórů

Křemičité mesoporézní materiály se kromě vhodné velikosti pórů vyznačují ještě další důležitou vlastností: jejich povrch lze poměrně snadno modifikovat a navázat na něj vhodné organické ligandy. Tento proces se nazývá silanizace. Jedná se o reakci organosilikátů s volnými hydroxylovými skupinami, které se nachází vně stěn křemičitého materiálu. Velmi často používaným činidlem je např. 3-(aminopropyl)triethoxysilan (APTES), pomocí něhož lze na křemičitou matici vnést aminoskupinu ( $-NH_2$ ), ale je možné získat nepřeberné množství dalších sloučenin; záleží jen na výběru organické komponenty. Silanizací vznikají tzv. organicko-anorganické hybridní materiály. Tyto materiály mají obrovský potenciál, neboť u nich lze využít kombinaci skvělých sorpčních vlastností samotného porézního křemičitého materiálu v kombinaci s reaktivitou připojených organických funkčních skupin. V praxi by to mohlo například znamenat možnost ovlivnit, kdy přesně se adsorbovaný materiál uvolní, což by bylo velkým přínosem pro cílený přenos léčiv (Slowing et al.,

2008; Wang, 2009), či možnost připojit „maskovací molekuly“, aby nebyly tyto částice rozpoznány a zničeny imunitním systémem dříve, než se dostanou na místo určení.

Pro biologické aplikace částic je také důležité hodnocení jejich interakce s živou tkání, tedy testy biokompatibility a toxicity. Pro křemičité mesoporézní materiály bylo doposud provedeno relativně malé množství těchto testů (Aghaei et al., 2014; Chung et al., 2007; Fu et al., 2013; Wang et al., 2013), což je překvapivé vzhledem ke skutečnosti, že jsou tyto materiály intenzivně studovány s vidinou použití pro medicínské účely. Nicméně již provedené testy naznačují, že samotné silikáty nejsou pro použití v živých organismech zcela vhodné. V porovnání s jinými např. polymerními nosiči mají mnohem nižší dávku, která způsobí závažné problémy nebo smrt. Nicméně bylo prokázáno, že nedochází k jejich kumulaci v tkáních a snadno se odbourávají. Stejně tak bylo ověřeno, že toxicitu způsobují samotné částice, nikoliv metabolity. Zajímavým faktem je, že horších výsledků bylo dosaženo při testech cytotoxicity *in vitro*, než při testech *in vivo*, kdy byly částice aplikovány potkanům a myším. (Hudson et al., 2008). Další studie však naznačují, že povrchově modifikované částice jsou pro organismus přijatelnější, což opět dostává do popředí organicko-anorganické hybridní materiály.

#### 2. 2. 2. 1. *Syntéza organicko-anorganických mesoporézních materiálů*

Příprava mesoporézních křemičitých materiálů byla objevena a patentována již v sedmdesátých letech 20. století, nicméně zůstala téměř nepovšimnuta. Opětovný zájem o tyto křemičité materiály nastal v devadesátých letech 20. stol, kdy na výzkumu pracovaly nezávisle skupiny vědců v Japonsku a USA. Postupně se objevily dvě skupiny materiálů MCM-41 (Mobil Crystalline Materials) a SBA-15 (Santa Barbara Amorphous type materiál). Nyní je oblast výzkumu rozšířena o následnou funkcionalizaci křemičité matrice organickými sloučeninami a jejich další modifikací pro jednotlivé aplikace.

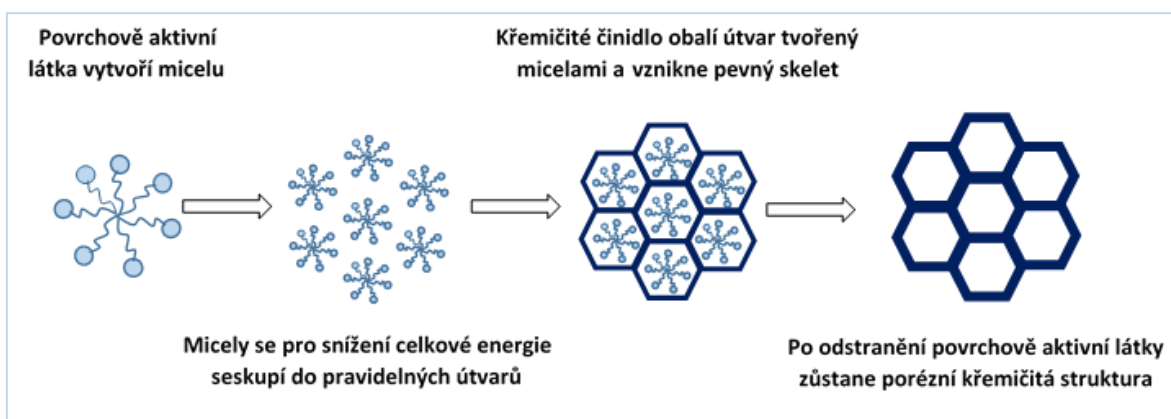
Pro přípravu organicko-anorganických křemičitých nanočástic jsou popsány tři různé způsoby (Hoffmann et al., 2006):

- Roubování – Postupná příprava, kdy jsou nejprve vytvořeny křemičité částice, které jsou následně modifikovány organickou složkou.
- Společná kondenzace („syntéza v jedné reakční nádobě“) – Příprava, při níž jsou v reakční směsi přítomny jak anorganické složky, tak organické funkcionalizační složky a rovnou vznikají hybridní organicko-anorganické částice.
- Produkce pravidelných mesoporézních organosilikátů – v tomto případě použitím speciálních sloučenin, které mají organickou složku vloženu mezi dvě křemičité skupiny, vznikají mesoporézní částice, které mají organickou složku zabudovanou přímo ve svých stěnách.



Takto připravené křemičito-organické materiály se označují zkratkou PMOs (Periodic mesoporous organosilicas).

Základní princip pro všechny způsoby je stejný. Prvním krokem je rozpuštění povrchově aktivní látky, která ve vodném prostředí vytvoří micely, které slouží jako kostra nebo lešení pro výstavbu stěn křemičitého materiálu. Po přidání křemičitých činidel do reakční směsi dojde k obalení micel křemičitou složkou a vytvoří se stěny materiálu. V závěrečné části syntézy se pak povrchově aktivní látka odstraní. Pro roubovací metodu je možné použít kalcinaci, tedy vyžhání v peci při vysoké teplotě. Obvykle se používá teplota nad 500 °C, částice je však nutné zahřívat postupně (cca 1 °C/min) neboť při příliš prudkém ohřevu by se přítomné organické složky mohly spálit až na samotný uhlík a znehodnotit tím konečný produkt. U společné kondenzace kalcinaci nelze použít, neboť by nebyla odstraněna pouze povrchově aktivní látka, ale také požadované organické skupiny. Pro odstranění povrchově aktivní látky se tedy nabízí použití extrakce např. kyselou hydrolýzou. Základní princip přípravy je patrný z následujícího Obrázek 7.

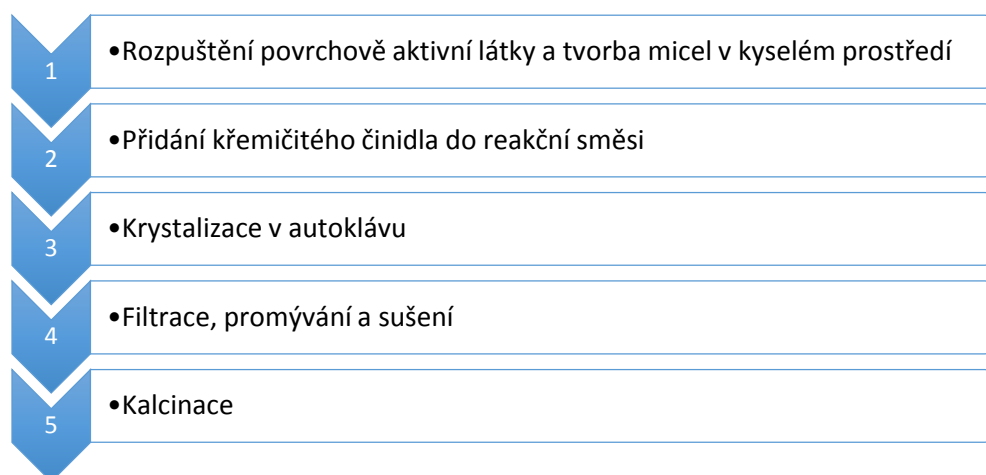


Obrázek 7: Princip přípravy křemičitých mesoporézních materiálů

Pro přípravu mnou zkoumaných funkcionalizovaných nanočástic SBA-15 byl vybrán první způsob přípravy, tedy roubování. Vycházela jsem ze závěrů předchozí bakalářské práce, kde byla vyzkoušena i společná kondenzace, ale lepších výsledků bylo dosaženo postupnou funkcionalizací. V případě, kdy byly nejprve připraveny samotné křemičité částice a teprve poté byla provedena funkcionalizace organickou složkou, se organická složka navázala především na povrchu a v okolí pórů, vnitřek pórů zůstal dostupný. Naproti tomu při společné kondenzaci obou komponent se často organická složka navázala i uvnitř pórů a tím je ucpala. Materiál pak vykazoval horší sorpční vlastnosti. Důvodem pro výběr částic typu SBA-15 byla snaha připravit materiál s odlišnou porézností, než mají pro dřívější práci připravené částice MCM-41, aby bylo možné tyto materiály porovnat. Z mnoha ověřených postupů přípravy byl zvolen takový, jehož výstupem mají být částice SBA-15 s poměrně širokými, ale přímými a krátkými póry (Meynen et al., 2009). Tyto částice byly následně funkcionalizovány

procesem silanizace za použití APTES, tak aby se na jejich povrch navázaly organické řetězce zakončené aminoskupinou.

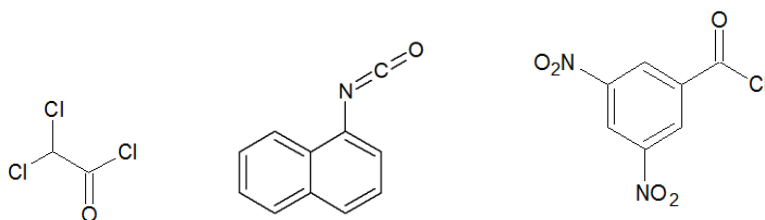
Stručný postup přípravy je uveden na následujícím Obrázek 8. Podrobný průběh syntézy je popsán v experimentální části této bakalářské práce.



Obrázek 8: Postup přípravy SBA-15

#### 2. 2. 2. 2. *Modifikace funkčních skupin pro vznik aniontového receptoru*

Organicko-anorganické mesoporézní materiály popsané výše nabízí možnost různorodé modifikace. V tomto případě byly provedeny reakce navázané aminoskupiny s elektronakceptorními substituenty, aby vznikla skupina amidová, jež by mohla sloužit jako aniontový receptor. Pro modifikaci byly jednotlivě použity dichloracetylchlorid, 1-naftylisokyanát a 3,5-dinitrobenzoylchlorid (Obrázek 9). Reakce probíhaly obdobným způsobem, funkcionalizovaný silikát byl dispergován v bezvodém toluenu spolu s reaktantem a směs se ponechala reagovat při laboratorní teplotě přes noc. Poté následovala filtrace, několikanásobné promytí a sušení. Podrobný postup přípravy je popsán v experimentální části této práce.



Obrázek 9: Použité substituenty. Zleva: dichloracetylchlorid, 1-naftylisokyanát, 3,5-dinitrobenzoylchlorid

### 2. 2. 3. Analýzy interakce s anionty

Původním cílem bylo proměřit interakci modifikovaných nanočástic s roztoky různých aniontů pomocí isothermální titrační kalorimetrie. V průběhu zpracování bakalářské práce, kdy jsem se seznamovala s metodikou měření na přístroji NanoITC, který naše laboratoř obdržela, se však ukázalo, že pro měření mnou připravených nanočástic není vhodný, protože jeho technické uspořádání neumožňuje měřit suspenze.

Náhradním řešením tedy bylo vyhodnotit ochotu zachytávat anionty ve vodném roztoku daného aniontu z úbytku jeho koncentrace před a po přidání modifikovaného silikátu. Pro vyhodnocení těchto změn koncentrace byla využita iontová chromatografie.

Nicméně byla provedena i měření s použitím ITC, při kterých však nebyly proměřeny mnou vyrobené nerozpustné silikáty, ale rozpustný sulfonamid. Tuto sloučeninu bylo možné rozpustit v *N,N*-dimethylformamidu, měření tedy probíhala s použitím tohoto rozpouštědla. Sulfonamid nese, stejně jako mnou připravené modifikované částice, parciální kladný náboj na atomu vodíku, který přísluší amidu, lze proto očekávat, že by se mohl vůči aniontům chovat podobně.

### 3. Experimentální část

#### 3. 1. Použité chemikálie a instrumentace

Pro přípravu studovaných materiálů a pro provedení experimentů byly použity speciální sloučeniny: povrchově aktivní látka P123 (poly(ethylenglykol)-blok-poly(propylenglykol)-blok-poly(ethylenglykol)), TEOS (tetraethylorthosilikát), APTES (3-(aminopropyl)triethoxysilan), dichloracetylchlorid, 1-naftylisokyanát a 3,5-dinitrobenzoylchlorid od firmy Sigma-Aldrich. Sloučeniny běžné, jakými jsou koncentrovaná HCl, toluen, *N,N*-dimethylformamid a KBr, byly od výrobců Penta a Lachema. Z přístrojového vybavení laboratoře byly pro analýzu využity isothermální titrační kalorimetr NanoITC Low Volume od firmy TA Instruments, iontový chromatograf ICS 90 od firmy Dionex a přístroj pro charakterizaci měrného povrchu a pórů Autosorb iQ od firmy Quantachrome.

#### 3. 2. Syntéza SBA-15

Pro praktickou část mé práce byl zvolen materiál SBA-15, který byl připraven již ověřeným postupem (Meynen et al., 2009) tak, aby obsahoval rovné krátké, ale zato relativně široké póry. Výchozími chemikáliemi byla povrchově aktivní látka P123 (polyethylenglykol-blok-polypropylenglykol-blok-poly(ethylenglykol)), koncentrovaná HCl a destilovaná voda. Nejprve jsem si do kulaté 500ml baňky připravila směs 127 ml H<sub>2</sub>O a 20 ml HCl a do směsi jsem poté navážila 4 g P123. Poté byla reakční baňka umístěna na magnetickou míchačku a při 900 otáčkách za minutu byla směs míchána až do úplného rozpuštění P123. Během tohoto procesu byl roztok zakalený a na povrchu se tvořila bílá pěna. Reakční směs jsem poté nechala ustát do dalšího dne a během této doby se pěna usadila a roztok zůstal zcela čirý.

Dalším krokem je přidání křemičitého činidla TEOS (tetraethylorthosilikát). Nejprve bylo potřeba zahřát reakční směs na 40 °C, což jsem učinila za pomoci olejové lázně umístěné na magnetické míchačce. Když reakční směs dosáhla požadované teploty, přidala jsem 9,1 ml TEOSu a pustila míchání na maximum (1200 rpm). Po osmi minutách jsem míchání ukončila a nechala reakční směs zrát při teplotě 40 °C dalších 7 hodin.

Vzniklý meziprodukt byla tuhá rosolovitá hmota, kterou bylo nutné nejprve rozrušit, aby ji bylo možné převést do autoklávy. Reakční baňku jsem následně vypláchla přibližně 3 ml destilované vody, abych získala co nejvíce požadované substance, nicméně stejně v tomto kroku došlo k částečným ztrátám. V autoklávu byla reakční směs ponechána při 100 °C po dobu 24 hodin.

Předposledním krokem je filtrace. Bílou mazlavou hmotu, kterou jsem získala z autoklávy, jsem přefiltrovala na fritě s porozitou 4 a promyla 6 x 50 ml destilované vody. Při promývání se z produktu odstraňují zbytky povrchově aktivní látky a filtrát hodně pění, což znepříjemňuje práci.

Experimentálně jsem zjistila, že je výhodnější pro filtraci využít pouze vodní vývěvy namísto vakuové pumpy, neboť s nižším vakuem filtrát pění méně a ve výsledku je práce rychlejší. Promytý produkt jsem nechala na Petriho misce usušit při laboratorní teplotě.

Závěrečným krokem syntézy je kalcinace. Usušený produkt jsem převedla do žíhací misky a umístila do pece. Postupným ohřevem s krokem zhruba 1 °C/min bylo dosaženo teploty 550 °C a při této teplotě byl produkt žihán po dobu 6 hodin. Výsledkem byl jasně bílý prášek, který měl tendence držet ve větších kusech. Při rozdrobení na jemný prášek se elektrostaticky nabíjel a lepil se na stěny vialky. Tímto postupem se mi podařilo připravit přibližně 2,4 g částic SBA-15. Materiál byl podroben BET analýze k určení měrného povrchu a velikosti pórů. (Viz výsledky a diskuse.)

### 3. 3. Funkcionalizace APTES

Při silanizaci je nutné udržet bezvodé prostředí, proto jsem připravené částice SBA-15 (2,27 g), které jsem převedla do kulaté 250ml baňky, nechala nejprve 2 hodiny vysušit při teplotě 100 °C. Poté jsem přidala 136 ml sušeného toluenu a za pomoci magnetického míchadla jsem silikát dispergovala.

Po 20 minutách byly již částice zcela dispergovány a bylo možné přidat funkcionalizační činidlo APTES (3-(aminopropyl)triethoxysilan). Přidala jsem tedy do reakční směsi 815 µl APTES a za stálého míchání (cca 600 rpm) jsem nechala reakční směs zahřát na olejové lázni na teplotu 80 °C. Tato teplota i intenzita míchání byly udržovány po dobu dalších 3 hodin. Během reakce se po přidání APTES vytvořil mírný zákal, který se asi po 20 minutách vyčeřil.

Finálním krokem bylo odpaření rozpouštědla, což jsem provedla za pomoci vakuové odparky při teplotě 40 °C, 60 otáčkách za minutu a tlaku 55-65 mbar. Výsledný produkt jsem poté pečlivě seškrábala ze stěn baňky, uzavřela ho do vialky a uzávěr utěsnila parafilmem, abych zabránila přístupu vzdušné vlhkosti k produktu. Celkem jsem touto metodou získala 3,17 g funkcionalizovaného silikátu. K určení počtu navázaných aminoskupin byl odeslán vzorek na elementární analýzu. (Viz výsledky a diskuse.)

### 3. 4. Modifikace SBA-15 a MCM-41 elektronakceptorními substituenty

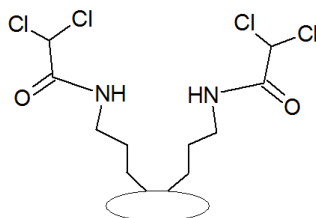
#### 3. 4. 1. Dichloracetylchlorid

Funkcionalizace dichloracetylchloridem byla použita pro oba křemičité materiály. Dichloracetylchlorid byl použit ve značném přebytku, předpokládáme tedy, že se navázal na všechny dostupné aminoskupiny.

Při syntéze funkcionalizovaných MCM-41 jsem do reakční baňky navázila 498 mg silikátu a ponechala jej v sušárně po dobu 2 hodin na 100 °C vysušit. Během této doby jsem si v srdcové baňce připravila reakční směs dichloracetylchloridu (5 ml) v suchém toluenu (100 ml). Do baňky s vysušeným silikátem

jsem přidala 100 ml suchého toluenu, rozmíchala silikát a poté jsem přidala 1 ml pyridinu. Do takto připravené směsi jsem pomalu přidala připravený roztok dichloracetylchloridu, uzavřela jsem baňku chlorkalciovým uzávěrem a ponechala směs reagovat do druhého dne. Poté jsem produkt zfiltrovala na fritě s porozitou 4 a promyla ho 4x ethanolem. Výsledkem byl bílý prášek, který jsem nechala předsušit na sklíčku, poté dosušit v sušárně při 80 °C po dobu 2 hodin a poté uzavřela do skleněné vialky a uzávěr utěsnila parafilmem. Tímto postupem jsem získala 510 mg funkcionalizovaného silikátu. Pro přehlednost je tento modifikovaný silikát v dalším textu nazýván MCM-41 - DCA.

U částic SBA-15 byl postup obdobný, jen došlo k mírným úpravám množství reagujících složek, protože jsme usoudili, že pětinasobný přebytek je dostačující. Také došlo k úpravě při promývání, kdy byl produkt navíc promyt také toluenem a získal tím zářivější bílou barvu. Navážených 1,3 g SBA-15 jsem i s reakční baňkou nechala 2 hodiny sušit při 100 °C, poté jsem silikát rozmíchala ve 130 ml toluenu a přidala 0,26 ml pyridinu. V srdcové baňce jsem si připravila reakční směs dichloracetylchloridu (1,3 ml) v suchém toluenu (20 ml) a pomalu jsem ji přidala do silikátu. Reakční baňku jsem uzavřela chlorkalciovou zátkou a ponechala směs reagovat do druhého dne. Pro vakuovou filtraci produktu byla použita fritka s porozitou 4 a produkt byl promyt 2x toluenem a 4x ethanolem. Výsledkem byl sněhobílý prášek, který byl opět ponechán uschnout na sklíčku a poté dosušen v sušárně po dobu 2 h při 80 °C. Výsledné množství produktu bylo 0,98 g. Tento modifikovaný silikát nese v dalším textu označení SBA-15 - DCA.

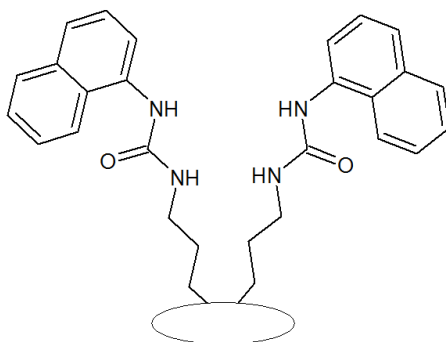


Obrázek 10: Amidový aniontový receptor s alifatickým elektronakceptorním substituentem

### 3. 4. 2. 1-naftylosokyanát

1-naftylosokyanátem bylo funkcionalizováno pouze malé množství MCM-41. Postup byl obdobný jako u dichloracetylchloridu. Do 50ml baňky jsem navázila 102 mg MCM-41 a silikát umístila na dvě hodiny do sušárny při teplotě 100 °C. Poté jsem silikát rozmíchala ve 20 ml suchého toluenu a přidala kapku pyridinu. V srdcové baňce byla připravena reakční směs 1-naftylosokyanátu (0,5 ml) v bezvodém toluenu (20 ml). Reakční směs jsem pomalu přidala k silikátu, baňku jsem uzavřela chlorkalciovou zátkou a ponechala její obsah reagovat do druhého dne. Poté byl produkt vakuově odsán za použití frity s porozitou 4 a promyt střídavě 3x toluenem a 3x ethanolem. Výsledný sněhobílý prášek byl

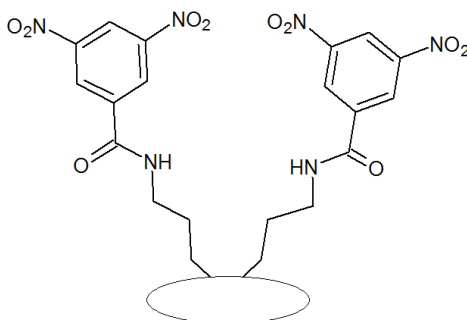
předsušen na sklíčku a poté dosušen v sušárně při 80 °C po dobu 2 hodin. Množství získané substance bylo 163 mg, pro označení této sloučeniny v dalším textu používám název MCM-41 - NAF.



Obrázek 11: Močovinový aniontový receptor s aromatickým elektronakceptorním substituentem

### 3. 4. 3. 3,5-dinitrobenzoylchlorid

Při funkcionalizaci 3,5-dinitrobenzoylchloridem došlo k potížím s rozpouštěním této látky v toluenu. Postup se tedy lišil od předchozích uvedených. Navážených 97 mg MCM-41 bylo vysušeno v sušárně po dobu dvou hodin při 100 °C a poté rozmícháno v 20 ml suchého toluenu. Poté bylo do srdcové baňky naváženo 131 mg 3,5-dinitrobenzoylchloridu a byl přidán toluen (20 ml). Pro rozpuštění bylo nutné směs zahřát a ani poté nebyl výsledek zcela ideální. Zahřátá směs byla přilita k rozmíchanému silikátu, bylo přidáno malé množství pyridinu (0,2 ml) a nakonec byla srdcová baňka vypláchnuta 10 ml DMF, abych ztratila co nejméně reakční složky. Nicméně část naváženého 3,5-dinitrobenzoylchloridu stejně zůstala v použité baňce. Reakční baňku jsem poté opět uzavřela chlorkalciovým uzávěrem a ponechala obsah reagovat do dalšího dne. Následně jsem produkt odfiltrovala na fritě s porozitou 4 a promyla ho 2x toluenem a 4x ethanolem. Výsledný produkt jsem nechala předsušit na sklíčku a poté dosušit v sušárně při teplotě 80 °C po dobu 2 hodin. Tímto postupem jsem získala 98 mg modifikovaného silikátu, pro nějž je v dalším textu použito označení MCM-41 - DNB.



Obrázek 12: Amidový aniontový receptor s aromatickým elektronakceptorním substituentem

### 3. 5. Testování zachytu aniontů ve vodném roztoku

Prvním krokem analýzy byla příprava roztoku bromidu draselného v destilované vodě. Tento roztok jsem připravila rozpuštěním 11,4 mg KBr ve 100 ml destilované vody, výchozí koncentrace tedy byla  $c = (1,0 \pm 0,1)$  mM.

Poté bylo provedeno pilotní měření, jehož cílem bylo zjistit, zda i samotné silikáty bez úpravy elektronakceptorními substituenty mají schopnost zachytit anionty bromidu a jaké množství silikátů je potřeba použít, aby bylo možné danou vlastnost zaznamenat ze změny koncentrace roztoku před a po přidání silikátu. Do jedné mikrozkušavky jsem navážila 21,40 mg materiálu MCM-41, do druhé mikrozkušavky 19,57 mg materiálu SBA-15, následně jsem do obou mikrozkušavek napipetovala 1 ml připraveného roztoku KBr a přidala malé magnetické míchadlo. Poté byly zkumavky umístěny na magnetickou míchačku, kde probíhalo míchání s intenzitou zhruba 200 otáček za minutu po dobu jedné hodiny. Následně jsem zviřené silikáty nechala do druhého dne usadit a poté jsem roztoky zfiltrovala. Vzorky filtrátů byly odeslány k analýze spolu se vzorkem zásobního roztoku. Ukázalo se však, že vzorek v množství 1 ml je pro analýzu příliš málo a bylo nutné jej silně naředit, aby mohlo být provedeno měření. Testy funkcionalizovaných silikátů byly tedy provedeny v pětinasobném množství roztoku KBr. Postup přípravy měření byl stejný jako u nefunkcionalizovaných silikátů, jen namísto mikrozkušavek byly použity skleněné vialky. Do jednotlivých vialek jsem navážila testované silikáty v množství přibližně přesně 20 mg a k nim jsem napipetovala 5 ml roztoku bromidu. Poté jsem opět vložila malé magnetické míchadlo a nechala silikáty v roztoku míchat na pomalé otáčky (cca 200 rpm), aby se stihla ustavit rovnováha. Druhý den jsem silikáty zfiltrovala a roztoky byly opět odeslány k analýze na iontový chromatograf. Přesné navážky jsou uvedeny v Tabulka 1 a výsledky analýz v části výsledky a diskuse.

Tabulka 1: Navážky jednotlivých materiálů

Materiál	Navážka [mg]	Objem roztoku KBr [ml]
MCM-41	21,40	1
SBA-15	19,57	1
MCM-41 - DCA	20,17	5
MCM-41 - NAF	20,46	5
MCM-41 - DNB	20,14	5
SBA-15 - DCA	20,05	5

### 3. 6. Měření interakcí modelové sloučeniny pomocí ITC

Pro modelové měření interakce s anionty s použitím isothermální titrační kalorimetrie byl zvolen roztok *N*-[3,5-bis(trifluormethyl)fenyl]methansulfonamidu (**Error! Reference source not found.**) a KBr DMF. Prvním krokem byla příprava roztoků. Do 50ml odměrné baňky jsem navážila 15,3 mg

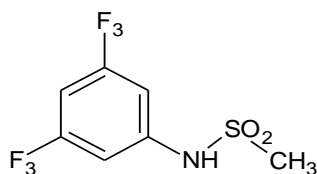


sulfonamidu, přidala asi 5 ml DMF, rozpustila sulfonamid a doplnila po rysku DMF. Získala jsem tím 50 ml roztoku sulfonamidu v DMF o koncentraci 0,99 mM. Obdobně jsem připravila roztok bromidu draselného o koncentraci 13,2 mM, kdy jsem do 25ml odměrné baňky navážila 39,3 mg KBr a doplnila po rysku *N,N*-dimethylformamidem. Bromid draselný se v DMF rozpouštěl poněkud neochotně, tak jsem pro urychlení jeho rozpuštění použila ultrazvuk.

Dalším přípravným krokem před samotnou titrací je odplynění měřicích roztoků. To probíhalo v ultrazvuku po dobu 15 minut. Poté proběhla příprava samotného kalorimetru. Nejprve byla důkladně promyta měřicí cela pomocí přiloženého odsávacího zařízení, poté byla pečlivě propláchnuta referenční cela a také titrační byreta (promýváno bylo použitým rozpouštědlem, tedy DMF). Poté byla referenční cela naplněna 300  $\mu$ l čistého DMF a uzavřena zátkou. Při přípravě měřicí cely jsem ji nejprve třikrát propláchla 500  $\mu$ l roztoku sulfonamidu a teprve poté ji naplnila 300  $\mu$ l téhož roztoku.

Zásadním krokem měření je správné naplnění byrety. Je zcela nutné, aby se v objemu nevyskytovaly žádné vzduchové bubliny. Experimentálně je však ověřeno od výrobce, že těsně pod pístem je nutné drobnou vzduchovou bublinku nechat. Byretu jsem tedy několikrát propláchla roztokem bromidu draselného a poté jsem ji naplnila 50  $\mu$ l roztoku dle instrukcí výrobce.

Samotná titrace pak probíhá již automaticky dle nastavení obslužného softwaru. V tomto případě bylo nastaveno 20 injektáží po 2,39  $\mu$ l s časovým odstupem 300 s při míchání 300 otáček za minutu. Po spuštění míchání je nutné zkontrolovat, že tepelný skok, který zapnutí míchání způsobí, není větší než 2  $\mu$ W, v opačném případě je pravděpodobné, že došlo k nějakým potížím při instalaci byrety např. k ohnutí titrační jehly a je nutné měření ukončit a zkontrolovat zařízení.

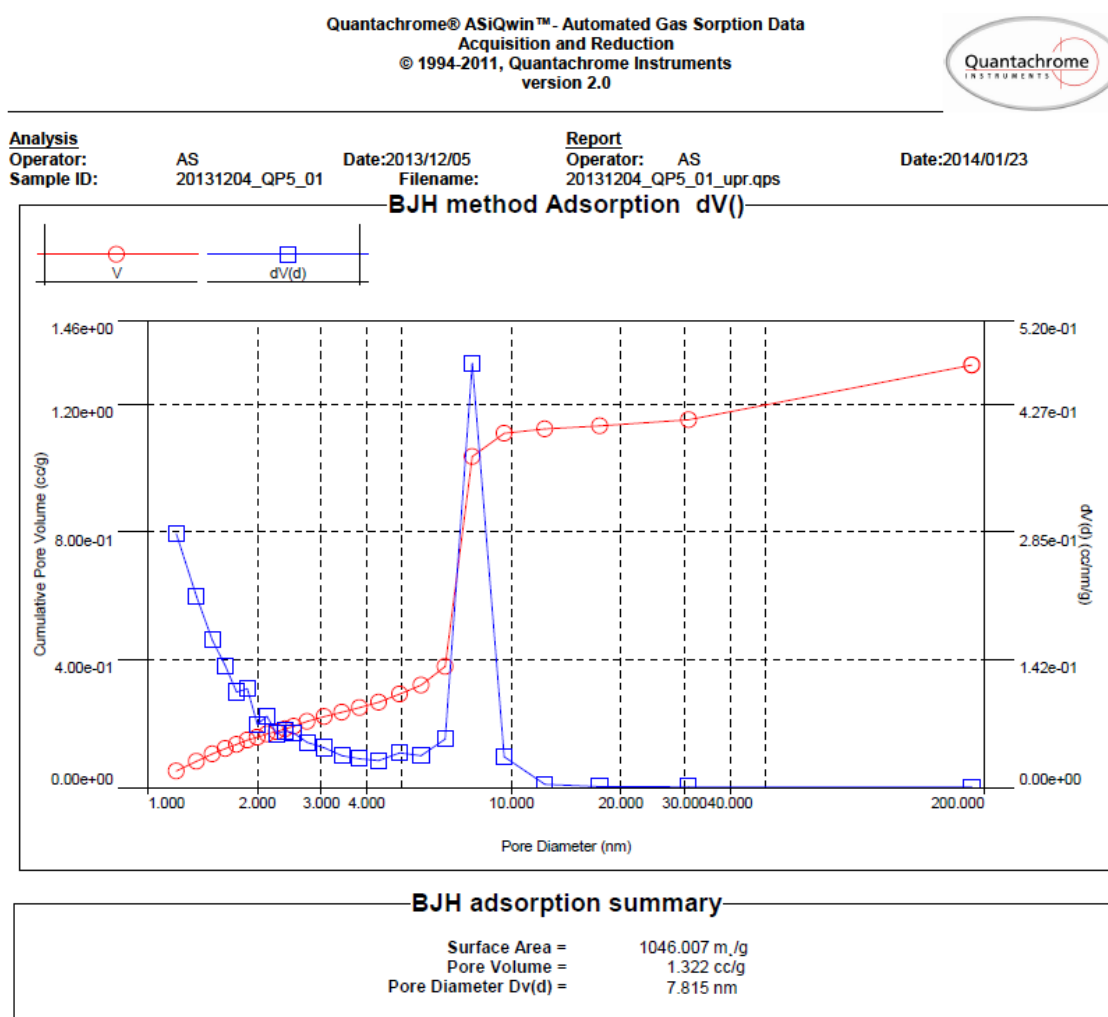


Obrázek 13 N-[3,5-bis(trifluormethyl)fenyl]methansulfonamid

## 4. Výsledky a diskuse

### 4.1. Analýza připravených nanočástic

Prvotní analýzou, které byl připravený silikát podroben, byla BET analýza pro určení měrného povrchu a velikosti pórů. Obrázek 14 zachycuje průběh adsorpční části měření. Je z něj patrné, že se na distribuční křivce průměru pórů (modrá barva) vyskytuje ostrý pík v oblasti zhruba 7 nm. Vzestup v počáteční části křivky naznačuje, že by materiál mohl obsahovat i nějaké mikropóry o průměru pod 2 nm, nicméně při celkovém vyhodnocení jejich přítomnost přístroj neuvedl.



Obrázek 14: BET analýza - Distribuční křivka průměru pórů a kumulativní křivka objemu pórů ve vzorku, vypočtená z adsorpční větve izotermy

Shrnutí získaných výsledků je v Tabulka 2 níže, kde uvádím porovnání hodnot mnou připravených nanočástic SBA-15 s údaji z článku, ze kterého jsem vycházela, (Meynen et al., 2009) a s charakteristikami materiálu MCM-41, který byl připraven v předchozí bakalářské práci (Savelov, 2013).

Tabulka 2: Výsledky BET analýzy

BET	(Meynen et al., 2009)	SBA-15	MCM-41
Měrný povrch [m <sup>2</sup> /g]	500 - 800	952	1281
Průměr pórů [nm]	6 - 8	7	2,38
Objem pórů [cm <sup>3</sup> /g]	0,9 – 1,2	1,3	1,25

Z hodnot uvedených v tabulce výše je zřejmé, že syntéza materiálu SBA-15 proběhla úspěšně. Průměr pórů se nachází přesně v rozmezí, které je uvedeno v literatuře. Měrný povrch a objem pórů je sice o trochu vyšší, než uvádí literatura, ale pro zamýšlenou aplikaci se nejedná o problém. Při porovnání křemičitých materiálů SBA-15 a MCM-41 je na první pohled patrný jejich rozdíl, materiál SBA-15 má výrazně větší průměr pórů než MCM-41.

Následně byla provedena elementární analýza materiálu funkcionalizovaného pomocí APTES, aby bylo možné určit množství navázaných aminoskupin. Měření proběhlo dvakrát a v tabulce níže jsou uvedeny průměrné hodnoty získané z obou měření. Funkcionalizační činidlo APTES obsahuje pouze jednu aminoskupinu, z uvedených hmotnostních procent dusíku je tedy možné určit molární množství dusíku ve vzorku na jednotku hmotnosti, které je shodné s molárním počtem aminoskupin na tutéž hmotnostní jednotku.

Tabulka 3: Výsledky elementární analýzy

Elementární analýza			
Prvek	C	H	N
Hm %	13,065	2,46	1,535
-NH <sub>2</sub> skupin	1,096 mmol/g		

Z uvedených výsledků plyne, že funkcionalizací APTES bylo na křemičitý materiál vneseno 1,096 mmol/g aminoskupin, což je nepatrně méně, než kolik obsahuje použitý materiál MCM-41 (1,17 mmol/g) (Savelov, 2013), stále se však jedná o výrazné množství aminoskupin.

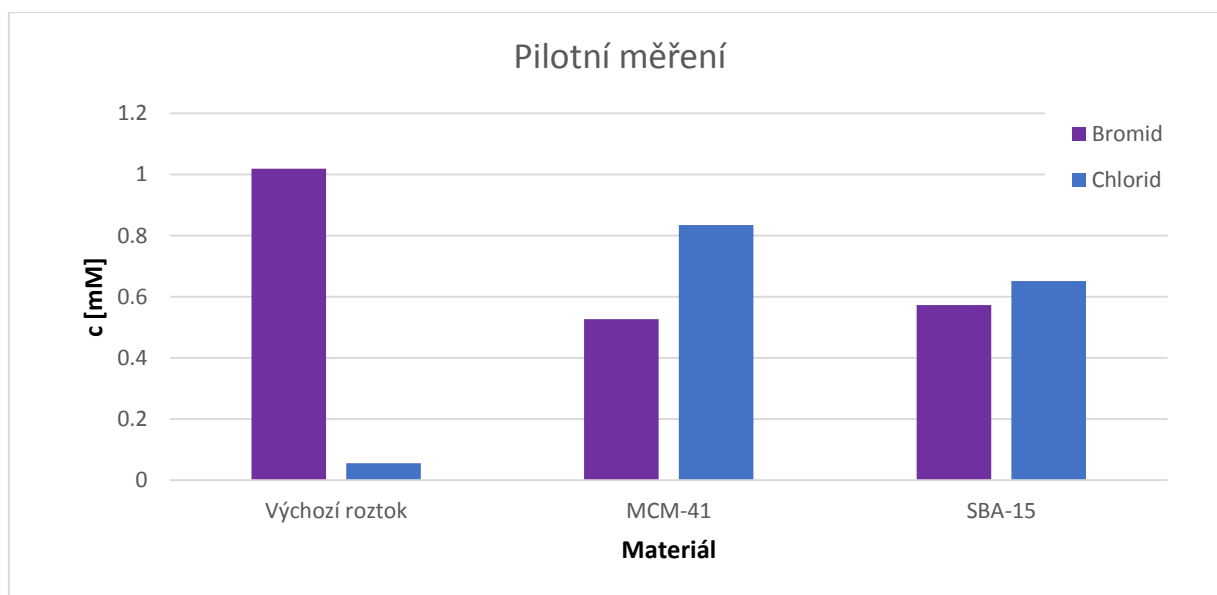
#### 4. 2. Záchyt aniontů ve vodném roztoku

Nejprve byl záchyt aniontů testován na materiálech MCM-41 a SBA-15 bez elektronakceptorních substituentů. Koncentrace roztoku bromidu byla změřena před a po přidání silikátu metodou iontové chromatografie. Výchozí objem 1 ml se však ukázal jako nedostatečný a bylo nutné jej zředit pro dosažení dostatečného množství vzorku. Následující tabulka 4 uvádí příslušná experimentální data.

Tabulka 4 Výsledky pilotního měření úbytku koncentrace bromidu

Pilotní měření	Navážka silikátu [mg]	$c_{Br}$ [mg/l]	$c_{Br}$ [mM]	$c_{Cl}$ [mg/l]	$c_{Cl}$ [mM]
Výchozí roztok	-	$81 \pm 8$	$1,0 \pm 0,1$	<2	<0,06
MCM-41	21,40	$42 \pm 4$	$0,53 \pm 0,05$	29,6	$0,83 \pm 0,08$
SBA-15	19,57	$46 \pm 4$	$0,57 \pm 0,06$	23,1	$0,65 \pm 0,06$

Ačkoliv bylo měření kvůli ředění zatíženo poměrně velkou nepřesností, úbytek koncentrace bromidu byl jasně patrný (Obrázek 15). Koncentrace roztoku klesla téměř na polovinu, pro další testy mohla tedy být použita stejná navážka silikátů i přes to, že byl použit pětinasobný objem roztoku. Při porovnání materiálu MCM-41 a SBA-15 lze říci, že mezi nimi není patrný žádný rozdíl. Menší úbytek koncentrace u vzorku SBA-15 je způsoben o něco menší navážkou. Kromě očekávané nižší koncentrace bromidů se ve výsledcích iontové chromatografie objevily překvapivě i chloridové ionty, a to v nezanedbatelném množství. Jejich jediným možným zdrojem byly použité křemičité materiály. Znamená to, že materiály v sobě obsahovaly zachycené chloridy a ve vodném prostředí je uvolnily do roztoku.



Obrázek 15: Grafické znázornění výsledků pilotního měření

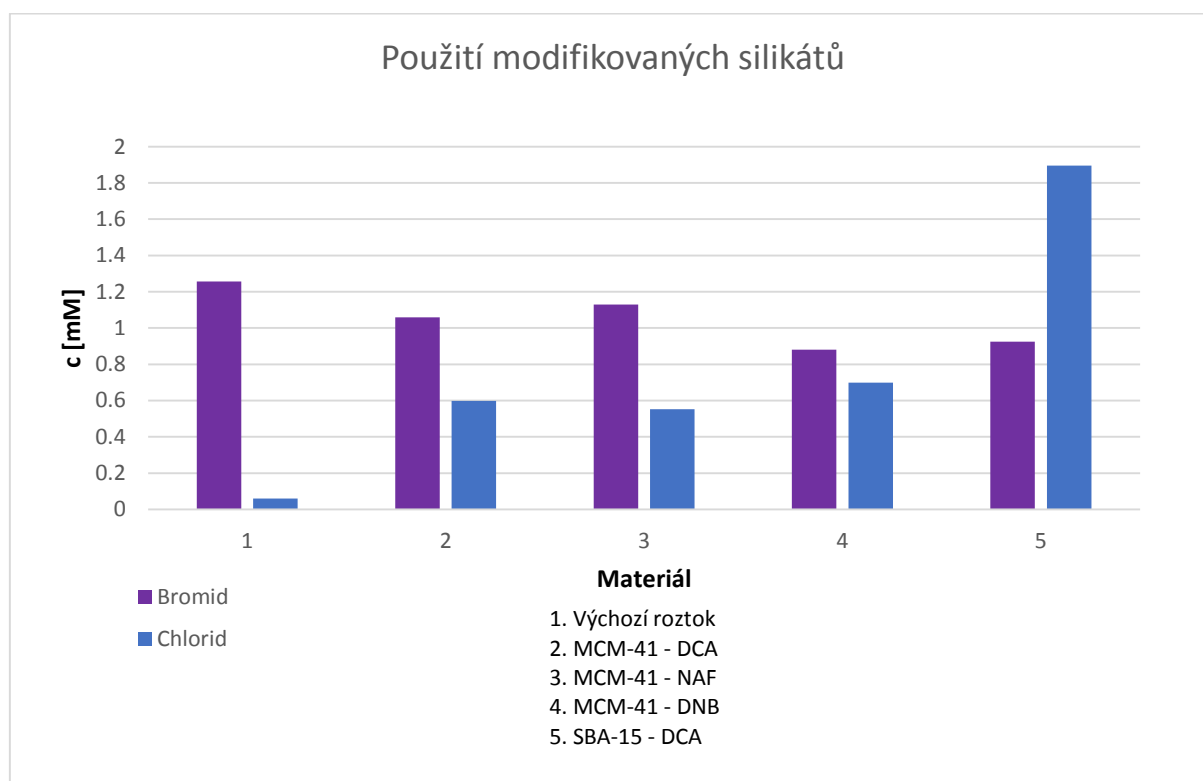
V následujícím kroku byly otestovány křemičité materiály funkcionalizované elektronakceptorními substituenty. Vzorky byly v dostatečném množství, bylo tedy možné je testovat přímo bez ředění. Koncentrace měřených roztoků po použití testovaných sloučenin jsou uvedeny v tabulce 5. U všech testovaných materiálů došlo k měřitelnému úbytku koncentrace bromidu v roztoku (Obrázek 16).

Tabulka 5: Výsledky měření koncentrace roztoku po použití modifikovaných silikátů

Materiál	Navážka silikátu [mg]	$c_{Br}$ [mg/l]	$c_{Br}$ [mM]	$c_{Cl}$ [mg/l]	$c_{Cl}$ [mM]
Výchozí roztok	-	$100 \pm 10$	$1,3 \pm 0,1$	$<2$	$<0,06$
MCM-41 - DCA	20,17	$85 \pm 8$	$1,1 \pm 0,1$	$21 \pm 2$	$0,60 \pm 0,06$
MCM-41 - NAF	20,46	$90 \pm 9$	$1,1 \pm 0,1$	$20 \pm 2$	$0,55 \pm 0,06$
MCM-41 - DNB	20,14	$70 \pm 7$	$0,88 \pm 0,09$	$25 \pm 2$	$0,70 \pm 0,07$
SBA-15 - DCA	20,05	$74 \pm 7$	$0,92 \pm 0,09$	$67 \pm 7$	$1,9 \pm 0,2$

Při porovnání jednotlivých „šarží“ materiálů se na první pohled jako nejméně účinný jeví MCM-41 s navázaným 1-naftylisokyanátem, u kterého došlo k nejmenšímu úbytku bromidu z roztoku. Na druhou stranu má však také nejnižší koncentraci uvolněného chloridu. Domnívám se, že tento výsledek je zkreslen tím, že daná modifikace je silně lipofilní a tím pádem se nesmáčí. Velká část vzorku tedy byla pro interakci s ionty nedostupná. Tento fakt bude třeba také zohlednit v dalších testech, kdy bude nutné zajistit takové podmínky, aby se veškerý povrch materiálu dostal do kontaktu s roztokem. U ostatních materiálů tento problém nenastal, všechny klesly ke dnu a byly zcela obklopeny testovanou kapalinou.

Nejlépších výsledků bylo dosaženo u materiálu MCM-41 s navázaným 3,5-dinitrobenzoylchloridem. Při porovnání MCM-41 a SBA-15 se stejnou modifikací je materiál SBA-15 účinnější.



Obrázek 16: Grafické znázornění výsledků měření koncentrace po použití modifikovaných silikátů

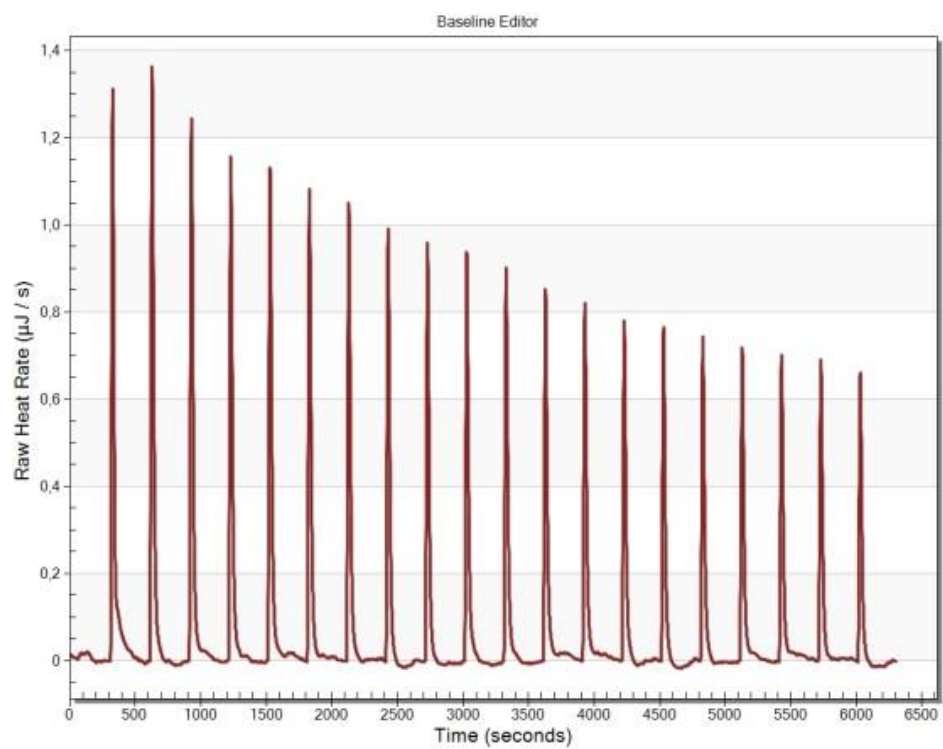
Chloridy se objevily u všech testovaných silikátů, tedy u těch, které byly modifikované chloridovými deriváty, i u těch, které vůbec modifikovány elektronakceptorními substituenty nebyly. Pokud by se chloridy objevily pouze u materiálů po modifikaci, nabízelo by se vysvětlení, že se jedná o nedostatečné promytí a odstranění reagujících složek. Vzhledem k tomu, že chloridy uvolnily i materiály, které měly být „čisté“, znamená to, že se jedná o pozůstatek z primárního kroku syntézy. Jediným krokem, kdy mohly částice přijít do kontaktu s chloridy, je vlastní syntéza, která probíhá v kyselém prostředí, které bylo zajištěno kyselinou chlorovodíkovou. Toto zjištění je velmi překvapivé, neboť jsou částice při syntéze několikrát promývány (dokonce jsem použila pětinasobek destilované vody, než bylo uvedeno), a o přítomnosti chloridů se v literatuře nezmiňují. Je možné, že na pozůstatky chloridů dosud nebyly tyto částice testovány. Nyní bude následovat optimalizace postupu tak, aby byly z materiálu všechny chloridy spolehlivě odstraněny.

Nicméně nález složky, kterou jsme vůbec neočekávali, má i svá pozitiva. Znamená to, že materiál sám o sobě je ochotný a schopný zachytit chloridové anionty ve značném množství a velmi pevně je v sobě uchovat (i přes všechny kroky, které se s materiálem během syntézy provádí). Stejně tak je ovšem průkazné, že za určitých podmínek je materiál MCM-41 i SBA-15 ochotný tyto nashromážděné ionty uvolnit a vypustit do roztoku (jinak bychom jejich přítomnost vůbec nezaznamenali).

Pro relevantní zhodnocení schopnosti vázat bromidové anionty z vodného roztoku bude žádoucí tyto pokusy zopakovat po odstranění všech přítomných chloridů ze zkoumaných materiálů. Nicméně i nyní je z výsledků patrné, že koncentrace bromidů v roztoku klesla.

#### 4. 3. Měření interakce modelové sloučeniny pomocí ITC

Měření modelové sloučeniny (sulfonamidu) proběhlo několikrát se stejným postupem. Výsledek prvního měření se velmi výrazně odlišoval od všech následujících. Nejspíš to bylo způsobeno nějakou zbylou nečistotou, ačkoliv jsem se snažila vše promýt pečlivě a důkladně. Následující po sobě jdoucí měření již přinesla shodné výsledky. Tepelné změny při titraci jsou viditelné na Obrázek 17. Použitý sulfonamid má podobnou strukturu jako amidový receptor MCM-41 – DNB, který jsem vytvořila modifikací funkcionalizovaného materiálu MCM-41 3,5-dinitrobenzoylchloridem, existuje tedy možnost, že by mohl vykazovat podobné chování vůči aniontům a z výsledků jeho měření na titračním kalorimetru by se dalo usuzovat i na chování modifikovaného silikátu, který není možné pro jeho nerozpustnost na tomto přístroji proměřit přímo.



Obrázek 17: Časový průběh energetických změn při titraci KBr do roztoku sulfonamidu

## 5. Závěr

V rámci vypracování bakalářské práce se mi podařilo připravit několik druhů aniontových receptorů, jejichž nosnou složkou byl křemičitý mesoporézní materiál MCM-41 a SBA-15. Tyto aniontové receptory byly vyzkoušeny na záchyt bromidu z vodného roztoku. Ze změny koncentrace roztoku před a po přidání silikátu, které byly změřeny metodou iontové chromatografie, je prokazatelné, že materiály interagují s aniontem a jsou ochotné ho z roztoku zachytit. Jako vedlejší efekt se prokázalo, že jsou tyto materiály schopné zachytit a zároveň opět uvolnit chloridy, neboť roztok, ve kterém byly původně chloridy pod hranicí měřitelnosti, po přidání silikátu chloridy obsahoval v nezanedbatelném množství. Z výsledků prvotních analýz jednoznačně plyne, že má smysl pokračovat ve zkoumání těchto typů materiálů za účelem tvorby aniontových receptorů. Drobnou nevýhodou, kterou tyto křemičité materiály mají, je jejich nerozpustnost. Tato vlastnost nepředstavuje problém pro případné aplikace na čištění odpadních vod, kde by je bylo možné použít např. ve formě filtračních kolon, ale značně komplikuje zkoumání jejich interakce s aniony. Původní snaha vyhodnotit energetické změny v systému silikát-aniont pomocí isothermální titrační kalorimetrie se ukázala jako neproveditelná. Titrační kalorimetr NanoITC Low Volume, který máme k dispozici v laboratoři, totiž svým uspořádáním neumožňuje měřit suspenze. Nicméně jsem na isothermálním titračním kalorimetru provedla měření interakce roztoku bromidu s rozpustným sulfonamidem, který ve své struktuře nese také parciální kladný náboj na atomu vodíku a mohl by vykazovat podobné vlastnosti při interakci s aniontem, jako připravené nerozpustné silikátové receptory. Z výsledků měření není možné dané interakce kvantifikovat, protože odezva nebyla příliš silná, ale zcela jistě k interakcím dochází, protože energetické změny při titraci KBr do roztoku sulfonamidu jsou výrazně větší než při titraci roztoku KBr do čistého rozpouštědla.



## Seznam literatury

- Aghaei, H., Nourbakhsh, A.A., Karbasi, S., JavadKalbasi, R., Rafienia, M., Nourbakhsh, N., Bonakdar, S., Mackenzie, K.J.D., 2014. Investigation on bioactivity and cytotoxicity of mesoporous nano-composite MCM-48/hydroxyapatite for ibuprofen drug delivery. *Ceram. Int.* 40, 7355–7362. doi:10.1016/j.ceramint.2013.12.079
- Amendola, V., Fabbrizzi, L., Mosca, L., 2010. Anion recognition by hydrogen bonding: urea-based receptors. *Chem. Soc. Rev.* 39, 3889. doi:10.1039/b822552b
- Bhatnagar, A., Kumar, E., Sillanpää, M., 2010. Nitrate removal from water by nano-alumina: Characterization and sorption studies. *Chem. Eng. J.* 163, 317–323. doi:10.1016/j.cej.2010.08.008
- Bondy, C.R., Loeb, S.J., 2003. Amide based receptors for anions. *Coord. Chem. Rev.* 240, 77–99.
- Bouchemal, K., 2008. New challenges for pharmaceutical formulations and drug delivery systems characterization using isothermal titration calorimetry. *Drug Discov. Today* 13, 960–972. doi:10.1016/j.drudis.2008.06.004
- Bui, T.X., Kang, S.-Y., Lee, S.-H., Choi, H., 2011. Organically functionalized mesoporous SBA-15 as sorbents for removal of selected pharmaceuticals from water. *J. Hazard. Mater.* 193, 156–163. doi:10.1016/j.jhazmat.2011.07.043
- Burckhardt, G., 2012. Drug transport by Organic Anion Transporters (OATs). *Pharmacol. Ther.* 136, 106–130. doi:10.1016/j.pharmthera.2012.07.010
- Chung, T.-H., Wu, S.-H., Yao, M., Lu, C.-W., Lin, Y.-S., Hung, Y., Mou, C.-Y., Chen, Y.-C., Huang, D.-M., 2007. The effect of surface charge on the uptake and biological function of mesoporous silica nanoparticles in 3T3-L1 cells and human mesenchymal stem cells. *Biomaterials* 28, 2959–2966. doi:10.1016/j.biomaterials.2007.03.006
- Dědinová, J., Hlavatý, E., 2014. Souhrnná zpráva za rok 2012 (ISBN 978-80-7212-598-2). Ministerstvo životního prostředí.
- Fu, C., Liu, T., Li, L., Liu, H., Chen, D., Tang, F., 2013. The absorption, distribution, excretion and toxicity of mesoporous silica nanoparticles in mice following different exposure routes. *Biomaterials* 34, 2565–2575. doi:10.1016/j.biomaterials.2012.12.043
- Gale, P.A., 2000. Anion coordination and anion-directed assembly: highlights from 1997 and 1998. *Coord. Chem. Rev.* 199, 181–233.
- Gale, P.A., 2001. Anion receptor chemistry: highlights from 1999. *Coord. Chem. Rev.* 213, 79–128.
- Gale, P.A., Quesada, R., 2006. Anion coordination and anion-templated assembly: Highlights from 2002 to 2004. *Coord. Chem. Rev.*, Anion Coordination Chemistry II 250, 3219–3244. doi:10.1016/j.ccr.2006.05.020
- Habibi, D., Faraji, A.R., 2013. Synthesis, characterization and application of a nano-manganese-catalyst as an efficient solid catalyst for solvent free selective oxidation of ethylbenzene, cyclohexene, and benzylalcohol. *Appl. Surf. Sci.* 276, 487–496. doi:10.1016/j.apsusc.2013.03.121
- Hoffmann, F., Cornelius, M., Morell, J., Fröba, M., 2006. Silica-Based Mesoporous Organic–Inorganic Hybrid Materials. *Angew. Chem. Int. Ed.* 45, 3216–3251. doi:10.1002/anie.200503075
- Hudson, S.P., Padera, R.F., Langer, R., Kohane, D.S., 2008. The biocompatibility of mesoporous silicates. *Biomaterials* 29, 4045–4055. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.07.007
- Lin, P.-C., Lin, S., Wang, P.C., Sridhar, R., 2013. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnol. Adv.* doi:10.1016/j.biotechadv.2013.11.006
- Mamaeva, V., Sahlgren, C., Lindén, M., 2013. Mesoporous silica nanoparticles in medicine—Recent advances. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, Inorganic nanoparticle platforms 65, 689–702. doi:10.1016/j.addr.2012.07.018
- Meynen, V., Cool, P., Vansant, E.F., 2009. Verified syntheses of mesoporous materials. *Microporous Mesoporous Mater.* 125, 170–223. doi:10.1016/j.micromeso.2009.03.046

- Moghassemi, S., Hadjizadeh, A., 2014. Nano-niosomes as nanoscale drug delivery systems: An illustrated review. *J. Controlled Release* 185, 22–36. doi:10.1016/j.jconrel.2014.04.015
- Morton, S.W., Zhao, X., Quadir, M.A., Hammond, P.T., 2014. FRET-enabled biological characterization of polymeric micelles. *Biomaterials* 35, 3489–3496. doi:10.1016/j.biomaterials.2014.01.027
- Roelfsema, M.R.G., Hedrich, R., Geiger, D., 2012. Anion channels: master switches of stress responses. *Trends Plant Sci.* 17, 221–229. doi:10.1016/j.tplants.2012.01.009
- Safaei-Ghomi, J., Teymuri, R., Shahbazi-Alavi, H., Ziarati, A., 2013. SnCl<sub>2</sub>/nano SiO<sub>2</sub>: A green and reusable heterogeneous catalyst for the synthesis of polyfunctionalized 4H-pyrans. *Chin. Chem. Lett.* 24, 921–925. doi:10.1016/j.cclet.2013.06.021
- Savelov, M., 2013. Mezoporézní částice - syntéza, funkcionalizace a jejich využití (BP). Technická univerzita v Liberci.
- Shpigelman, A., Shoham, Y., Israeli-Lev, G., Livney, Y.D., 2014.  $\beta$ -Lactoglobulin–naringenin complexes: Nano-vehicles for the delivery of a hydrophobic nutraceutical. *Food Hydrocoll.* 40, 214–224. doi:10.1016/j.foodhyd.2014.02.023
- Slowing, I., Viveroescoto, J., Wu, C., Lin, V., 2008. Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers☆. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 60, 1278–1288. doi:10.1016/j.addr.2008.03.012
- Szegedi, A., Popova, M., Goshev, I., Mihály, J., 2011. Effect of amine functionalization of spherical MCM-41 and SBA-15 on controlled drug release. *J. Solid State Chem.* 184, 1201–1207. doi:10.1016/j.jssc.2011.03.005
- Truong, K., Ikura, M., 2001. The use of FRET imaging microscopy to detect protein–protein interactions and protein conformational changes in vivo. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 11, 573–578. doi:10.1016/S0959-440X(00)00249-9
- Velázquez Campoy, A., Freire, E., 2005. ITC in the post-genomic era...? Priceless. *Biophys. Chem.* 115, 115–124. doi:10.1016/j.bpc.2004.12.015
- Wang, S., 2009. Ordered mesoporous materials for drug delivery. *Microporous Mesoporous Mater.* 117, 1–9. doi:10.1016/j.micromeso.2008.07.002
- Wang, X., Li, X., Ito, A., Sogo, Y., Ohno, T., 2013. Particle-size-dependent toxicity and immunogenic activity of mesoporous silica-based adjuvants for tumor immunotherapy. *Acta Biomater.* 9, 7480–7489. doi:10.1016/j.actbio.2013.03.031
- You, C.-C., Agasti, S.S., Rotello, V.M., 2008. Isomeric Control of Protein Recognition with Amino Acid- and Dipeptide-Functionalized Gold Nanoparticles. *Chem. - Eur. J.* 14, 143–150. doi:10.1002/chem.200701234

## Seznam obrázků

Obrázek 1: Tepelné změny při titraci HCl do $\text{KHCO}_3$ .....	13
Obrázek 2: Průběh signálu a statistické vyhodnocení při titraci HCl do $\text{KHCO}_3$ .....	14
Obrázek 3: Elektromagnetické spektrum .....	15
Obrázek 4: Schéma FRET .....	19
Obrázek 5: Typy kovy neobsahujících receptorů .....	20
Obrázek 6: Klasifikace porézních materiálů dle velikosti pórů .....	22
Obrázek 7: Princip přípravy křemičitých mesoporézních materiálů .....	24
Obrázek 8: Postup přípravy SBA-15 .....	25
Obrázek 9: Použité substituenty. Zleva: dichloracetylchlorid, 1-naftylisokyanát, 3,5-dinitrobenzoylchlorid .....	25
Obrázek 10: Amidový aniontový receptor s alifatickým elektronakceptorním substituentem .....	29
Obrázek 11: Močovinový aniontový receptor s aromatickým elektronakceptorním substituentem ...	30
Obrázek 12: Amidový aniontový receptor s aromatickým elektronakceptorním substituentem .....	30
Obrázek 13 N-[3,5-bis(trifluormethyl)fenyl]methansulfonamid .....	32
Obrázek 14: BET analýza - Distribuční křivka průměru pórů a kumulativní křivka objemu pórů ve vzorku, vypočtená z adsorpční větve izotermy .....	33
Obrázek 15: Grafické znázornění výsledků pilotního měření .....	35
Obrázek 16: Grafické znázornění výsledků měření koncentrace po použití modifikovaných silikátů ..	36
Obrázek 17: Časový průběh energetických změn při titraci KBr do roztoku sulfonamidu .....	38

## Seznam tabulek

Tabulka 1 Navážky jednotlivých materiálů .....	31
Tabulka 2 Výsledky BET analýzy .....	34
Tabulka 3 Výsledky elementární analýzy .....	34
Tabulka 4 Výsledky pilotního měření úbytku koncentrace bromidu .....	35
Tabulka 5 Výsledky měření modifikovaných silikátů .....	36